

IMMUNHISTOLOGISCHER NACHWEIS EINER INTRAMYOKARDIALEN ENTZÜNDUNG BEI PATIENTEN MIT MYOKARDITIS ODER DILATATIVER KARDIOMYOPATHIE – EINE METAANALYSE

Dissertation
zur Erlangung des akademischen Grades
doctor medicinae (Dr. med.)

**vorgelegt dem Rat der Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Schiller-Universität Jena**

von Julius Ludwig Katzmann,
geboren am 02.08.1989 in Eisenach

Erster Gutachter: PD Dr. med. Michel Noutsias, FESC, FHFA, Jena
Zweiter Gutachter: Prof. Dr. med. Torsten Doenst, Jena
Dritter Gutachter: Prof. Dr. med. Stephan Felix, Greifswald

Tag der öffentlichen Verteidigung: 31.01.2017

Inhaltsverzeichnis

| | |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Abkürzungsverzeichnis..... | 5 |
| Zusammenfassung | 7 |
| 1 Einleitung | 9 |
| 1.1 Myokarditis, dilatative Kardiomyopathie (DCM) und inflammatorische Kardiomyopathie (DCMi)..... | 9 |
| 1.1.1 Definition und Epidemiologie..... | 9 |
| 1.1.2 Ätiologie und Pathogenese..... | 10 |
| 1.1.3 Klinische Symptomatik..... | 14 |
| 1.1.4 Diagnostik | 14 |
| 1.1.5 Therapie | 16 |
| 1.1.6 Verlauf, Komplikationen und Prognose..... | 17 |
| 1.2 Endomyokardbiopsien (EMBs)..... | 19 |
| 1.2.1 Indikation | 19 |
| 1.2.2 Durchführung | 19 |
| 1.2.3 Auswertung | 20 |
| 1.2.3.1 Histologie, Dallas-Kriterien..... | 20 |
| 1.2.3.2 Diagnosestellung einer intramyokardialen Entzündung mittels Immunhistologie | 22 |
| 1.2.3.3 Nachweis von Virusgenomen..... | 27 |
| 1.2.4 Komplikationen..... | 27 |
| 1.3 Kausale, immunmodulatorische Therapieverfahren bei Myokarditis und DCM/DCMi... | 28 |
| 1.3.1 Allgemeine Aspekte | 28 |
| 1.3.2 Spezielle Therapieverfahren..... | 28 |
| 1.3.2.1 Immunsuppression..... | 28 |
| 1.3.2.2 Immunmodulation, antivirale Therapie | 29 |
| 1.3.3 Bedeutung der EMB-Diagnostik für kausale Therapieansätze | 30 |
| 1.4 Metaanalysen | 31 |
| 2 Ziele der Arbeit..... | 33 |
| 3 Material und Methoden | 35 |
| 3.1 Literatursuche..... | 35 |
| 3.2 Methodik zur Selektion der relevanten Publikationen | 36 |
| 3.3 Datenerhebung aus den selektierten Publikationen..... | 39 |
| 3.4 Statistische Analyse | 39 |

| | | |
|---------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 4 | Ergebnisse..... | 41 |
| 4.1 | Selektion der relevanten Publikationen und deren Charakteristika..... | 42 |
| 4.1.1 | Selektion der relevanten Publikationen..... | 42 |
| 4.1.2 | Beschreibung der eingeschlossenen Publikationen..... | 44 |
| 4.1.2.1 | Demographische und klinische Charakteristika der eingeschlossenen Patienten | 44 |
| 4.1.2.2 | Diagnostische Methoden: Immunhistologie, Histologie, CMR..... | 48 |
| 4.1.2.3 | Kontrollpatienten..... | 48 |
| 4.2 | Immunhistologischer Nachweis einer intramyokardialen Entzündung..... | 49 |
| 4.2.1 | Studienergebnisse im Einzelnen | 49 |
| 4.2.2 | Metaanalyse der Nachweisraten einer immunhistologisch diagnostizierten intramyokardialen Entzündung | 53 |
| 4.2.3 | Untersuchung der eingeschlossenen Studien auf <i>publication bias</i> hinsichtlich des immunhistologischen Ergebnisses | 55 |
| 4.2.4 | Nachweisraten einer immunhistologisch diagnostizierten intramyokardialen Entzündung in verschiedenen Untergruppen | 57 |
| 4.2.4.1 | Nachweisraten nach klinischer Diagnose | 57 |
| 4.2.4.2 | Nachweisraten nach Diagnosekriterium | 58 |
| 4.2.4.3 | Nachweisraten nach Forschungsgruppe..... | 63 |
| 4.2.4.4 | Nachweisraten nach Zeitpunkt der Veröffentlichung der Studien..... | 65 |
| 4.2.4.5 | Interaktion zwischen den Untergruppen nach klinischer Diagnose und Diagnosekriterium | 67 |
| 4.3 | Vergleich des immunhistologischen mit dem histologischen Nachweis einer intramyokardialen Entzündung | 67 |
| 4.3.1 | Ergebnisse der histologischen Untersuchungen im Einzelnen..... | 67 |
| 4.3.2 | Metaanalyse der Nachweisraten einer histologisch diagnostizierten Myokarditis..... | 69 |
| 4.3.3 | Vergleich von Immunhistologie und Histologie | 69 |
| 4.4 | Vergleich des immunhistologischen Nachweises einer intramyokardialen Entzündung mit der CMR-Diagnostik..... | 71 |
| 4.4.1 | Ergebnisse der CMR-Untersuchungen im Einzelnen..... | 71 |
| 4.4.2 | Vergleich von Immunhistologie und CMR..... | 75 |

| | | |
|---------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 5 | Diskussion | 78 |
| 5.1 | Diskussion zum immunhistologischen Nachweis einer intramyokardialen Entzündung.. | 78 |
| 5.1.1 | Methodik | 78 |
| 5.1.2 | Metaanalyse der immunhistologischen Ergebnisse..... | 80 |
| 5.1.2.1 | Eingeschlossene Studien..... | 80 |
| 5.1.2.2 | Mittlere Nachweisrate einer intramyokardialen Entzündung | 84 |
| 5.1.3 | Nachweisraten einer intramyokardialen Entzündung in verschiedenen Untergruppen..... | 85 |
| 5.1.3.1 | Nachweisraten nach klinischer Diagnose | 85 |
| 5.1.3.2 | Nachweisraten nach Diagnosekriterium | 88 |
| 5.1.3.3 | Nachweisraten nach Forschungsgruppe..... | 93 |
| 5.1.3.4 | Nachweisraten nach Zeitpunkt der Veröffentlichung der Studien | 93 |
| 5.1.3.5 | Interaktion zwischen den Untergruppen nach klinischer Diagnose und Diagnosekriterium | 94 |
| 5.1.3.6 | Heterogenität in einzelnen Untergruppen | 94 |
| 5.2 | Diskussion zum Vergleich des immunhistologischen mit dem histologischen Nachweis einer intramyokardialen Entzündung | 95 |
| 5.2.1 | Methodik | 95 |
| 5.2.2 | Metaanalyse der histologischen Ergebnisse und Vergleich mit der Immunhistologie | 96 |
| 5.3 | Diskussion zum Vergleich des immunhistologischen Nachweises einer intramyokardialen Entzündung mit der CMR-Diagnostik | 97 |
| 5.3.1 | Methodik | 98 |
| 5.3.2 | Vergleich von Immunhistologie und CMR..... | 98 |
| 6 | Schlussfolgerungen..... | 102 |
| 7 | Literatur- und Quellenverzeichnis | 104 |
| 8 | Anhang | 122 |
| | Danksagung..... | 122 |
| | Veröffentlichungen | 123 |
| | Ehrenwörtliche Erklärung | 124 |

Abkürzungsverzeichnis

Im Duden definierte Abkürzungen sind nicht aufgeführt.

| | |
|-----------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| ACCF | <i>American College of Cardiology Foundation</i> |
| ACE | <i>angiotensin-converting enzyme</i> |
| AHA | <i>American Heart Association</i> |
| AUC | <i>area under the curve</i> , Fläche unter der Kurve |
| CAMs | <i>cell adhesion molecules</i> , Zelladhäsionsmoleküle |
| CD | <i>cluster of differentiation</i> |
| CD3+/CD2+ u. a. | positiv für die Marker CD3 und CD2 u. a. („CD3/CD2 positiv“) |
| CMR | <i>cardiac magnetic resonance</i> , Magnetresonanztomographie des Herzens |
| DCM | dilatative Kardiomyopathie |
| DCMi | inflammatorische Kardiomyopathie |
| EKG | Elektrokardiogramm |
| EMB(s) | Endomyokardbiopsie(n), Endomyokardbiopat(e) |
| ESC | <i>European Society of Cardiology</i> |
| HPF | <i>high power field</i> , Haupt Gesichtsfeld; in der Regel 400fache Mikroskop-Vergrößerung |
| ICD-10 | <i>International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems</i> , Version 10 |
| IgG | Immunglobulin G |
| IVIG | intravenöse Immunglobuline |
| KI | Konfidenzintervall |
| LGE | <i>late gadolinium enhancement</i> , späte Anreicherung von Gadolinium (MRT-Kontrastmittel) |
| MC | Myokarditis |
| MRT | Magnetresonanztomographie |
| NYHA | <i>New York Heart Association</i> |

| | |
|-------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| PCR | <i>polymerase chain reaction,</i> Polymerase-Kettenreaktion |
| PPCM | peripartale Kardiomyopathie |
| <i>PRISMA Statement</i> | <i>Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses,</i> Empfehlungen zur Erstellung von systematischen Übersichtsarbeiten und Metaanalysen |
| ROC | <i>receiver operating characteristics,</i> Grenzwertoptimierungskurve |
| SD | <i>standard deviation,</i> Standardabweichung |
| Tab. | Tabelle |
| vs. | versus |
| WHO | <i>World Health Organization</i> |

Zusammenfassung

Die Krankheitsbilder Myokarditis und dilatative Kardiomyopathie (DCM) treten häufig bei relativ jungen Patienten auf und können mit einer schlechten Prognose assoziiert sein. Die Pathogenese beider Erkrankungen beruht u. a. auf einer intramyokardialen Entzündungsreaktion, die einen Angriffspunkt für ätiologisch ausgerichtete Therapieverfahren bietet. Eine solche Entzündung wird mithilfe von Endomyokardbiopsien (EMBs) diagnostiziert. Die Untersuchung der Biopsate (EMBs) erfolgt histologisch nach den Dallas-Kriterien oder immunhistologisch nach verschiedenen, nicht standardisierten Kriterien. Eine nichtinvasive diagnostische Alternative ist die kardiale Magnetresonanztomographie (CMR).

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, alle Publikationen zusammenzutragen, in denen EMBs von Patienten mit den klinischen Verdachtsdiagnosen Myokarditis oder DCM nach definierten Kriterien immunhistologisch auf das Vorliegen einer intramyokardialen Entzündung untersucht wurden. Aus diesen Publikationen sollte die mittlere Nachweis-häufigkeit einer intramyokardialen Entzündung bestimmt, Einflussfaktoren ermittelt und die Immunhistologie mit Histologie und CMR verglichen werden.

Für den Einschluss in diese Metaanalyse eigneten sich 61 Studien. Darin wurden 10 491 Patienten (Durchschnittsalter: 47,1 Jahre, Männer: 66,2 %) und 460 Kontrollpatienten untersucht. Eine intramyokardiale Entzündung wurde immunhistologisch bei 50,9 % (95 %-KI: 46,4–55,4 %) der Patienten und bei keinem der Kontrollpatienten nachgewiesen. Die Studienergebnisse zeigten ein hohes Maß an Heterogenität ($I^2 = 86,2 \%$), was u. a. den 13 verschiedenen immunhistologischen Diagnosekriterien zuzuschreiben ist. Ein *publication bias* bestand nicht ($p = 0,4264$). Bei Patienten mit der Verdachtsdiagnose Myokarditis wurde eine intramyokardiale Entzündung in 58,6 % (95 %-KI: 51,2–65,0 %) der Fälle diagnostiziert und damit signifikant häufiger als bei Patienten mit der Verdachtsdiagnose DCM (47,0 % [95 %-KI: 42,3–51,7 %]; $p = 0,0053$). Für beide Krankheitsbilder gilt, dass der Anteil von Patienten mit intramyokardialer Entzündung höher ist als anhand der früher üblichen, ausschließlich histologischen Begutachtung der EMBs nach den Dallas-Kriterien vermutet wurde. Die Abklärung einer möglichen Myokarditis sollte deshalb, wie von der *European Society of Cardiology* (ESC) gefordert, mittels EMB-Diagnostik

erfolgen. Ein relevanter Anteil der DCM-Patienten mit immunhistologisch diagnostizierter intramyokardialer Entzündung profitiert von einer Immunsuppression als kausalem Therapieverfahren, wie in zwei randomisierten Studien gezeigt wurde. Eine Standardisierung der immunhistologischen Diagnostik erscheint aufgrund der Vielzahl an Diagnosekriterien wünschenswert.

In 30 Studien wurden die EMBs von 3274 Patienten histologisch nach den Dallas-Kriterien untersucht. Die Nachweisrate einer Myokarditis (*borderline*- [grenzwertige] oder aktive Myokarditis) war mit 13,6 % (95 %-KI: 11,3–16,3 %) signifikant niedriger als unter Verwendung der Immunhistologie (*odds ratio* 6,6 [95 %-KI: 5,8–7,5]; $p < 0,0001$). Zur Diagnosestellung einer intramyokardialen Entzündung sollte nur noch die methodisch überlegene Immunhistologie genutzt werden. Anhand ihrer Ergebnisse können – im Gegensatz zu denen der Histologie – zudem Aussagen zur Prognose getroffen und Patienten selektiert werden, die von einem kausalen Therapieverfahren profitieren.

Die immunhistologische Diagnostik wurde in 13 Studien bei 1185 Patienten mit der CMR verglichen. Für die CMR wurde eine Sensitivität von 69 % (95 %-KI: 58–79 %) und eine Spezifität von 73 % (95 %-KI: 59–84 %) in Bezug auf die Immunhistologie als Goldstandard ermittelt. Die CMR kann die EMB-Diagnostik nach derzeitigem Stand nicht ersetzen. Allerdings muss v. a. die errechnete Spezifität kritisch betrachtet werden, weil immunhistologisch wahrscheinlich nicht alle Fälle mit intramyokardialer Entzündung erfasst werden. Hingegen gilt gemäß der ermittelten Sensitivität, dass eine Myokarditis anhand eines negativen CMR-Befundes nicht ausgeschlossen werden kann. Aufgrund ihres nichtinvasiven Charakters und möglicher technischer Weiterentwicklungen stellt die CMR eine wichtige Option in der Diagnostik von Myokarditis und DCM dar.

1 Einleitung

„There are three phases to treatment: diagnosis, diagnosis, and diagnosis.“

– William Osler, 1892

Eine Entzündung der Herzmuskulatur ist nicht nur das Charakteristikum der Myokarditis, sondern spielt auch bei der Entstehung der dilatativen Kardiomyopathie (DCM) eine wichtige Rolle. Die Therapie beider Erkrankungen richtet sich gegen die Krankheitsfolgen, nicht jedoch gegen ihre Ursachen. Die DCM kann fatal verlaufen. Sie ist bei Patienten mit Herztransplantation die am häufigsten zugrunde liegende Erkrankung.

Die Behandlung der DCM folgt den Leitlinien zur Therapie der Herzinsuffizienz. In den letzten Dekaden haben sich außerdem immunmodulatorische Therapieverfahren als kausale Therapieansätze bei inflammatorischer Kardiomyopathie (DCMi) etabliert. Grundlage für derartige Verfahren ist die Selektion von Patienten mit DCMi aus dem Gros der Patienten mit DCM. Die differentialdiagnostische Abgrenzung basiert auf der Untersuchung von Gewebeproben der Herzmuskulatur, die mittels Endomyokardbiopsie (EMB) entnommen werden (Richardson et al. 1996).

Im folgenden Kapitel werden die beiden o. g. Krankheitsbilder vorgestellt und ein Überblick über EMBs und kausale Therapieverfahren bei DCMi gegeben. Abschließend werden grundsätzliche Aspekte zu Metaanalysen besprochen.

1.1 Myokarditis, dilatative Kardiomyopathie (DCM) und inflammatorische Kardiomyopathie (DCMi)

1.1.1 Definition und Epidemiologie

Unter Myokarditis versteht man nach der WHO-Klassifikation von 1995 eine entzündliche Erkrankung des Herzmuskels (Richardson et al. 1996).

Zur Epidemiologie der Myokarditis existieren keine gesicherten Daten. In einer Untersuchung wurde anhand einer selektierten Kohorte von ca. 700 000 Wehrpflichtigen mit einem Durchschnittsalter von 20 Jahren eine Inzidenz von 17 Erkrankungen/100 000 Männer/Jahr ermittelt (Karjalainen und Heikkila 1999). Die Prävalenz der Myokarditis wird

bei Patienten mit Herzinsuffizienz auf 0,5–4,0 % geschätzt (Cooper et al. 2014). Als Ursache für den plötzlichen Herztod wird die Myokarditis für 8,6 % der Fälle in allen Altersklassen und für bis zu 42 % der Fälle bei jungen Männern verantwortlich gemacht (Fabre und Sheppard 2006, Phillips et al. 1986).

Kardiomyopathien sind Erkrankungen des Herzmuskels, die mit einer eingeschränkten Herzfunktion assoziiert sind. Die DCM ist durch eine Dilatation und eine eingeschränkte Kontraktionsfähigkeit des linken oder beider Ventrikel gekennzeichnet (Richardson et al. 1996). Sie ist die häufigste primäre Kardiomyopathie (Codd et al. 1989). Die Inzidenz wird mit 5–8/100 000/Jahr angegeben, die Prävalenz mit 36,5/100 000. Männer erkranken im Verhältnis 3 : 1 häufiger als Frauen. Eine DCM wird meist im mittleren Lebensalter erstmals diagnostiziert. Auch Jugendliche können betroffen sein können (Olbrich 2001, Felker et al. 2000b).

Die inflammatorische Kardiomyopathie (DCMi) wurde erstmals 1995 als spezifische Kardiomyopathie klassifiziert. Gemäß der Definition handelt es sich um eine Myokarditis mit eingeschränkter Herzfunktion. Voraussetzung für die Diagnosestellung ist der Nachweis einer intramyokardialen Entzündung mittels Histologie oder Immunhistologie, der Nachweis einer myokardialen Virusinfektion oder einer gegen kardiale Antigene gerichteten Autoimmunität (Richardson et al. 1996).

Die peripartale Kardiomyopathie (PPCM) ist eine weitere spezifische Herzmuskelerkrankung, die im letzten Monat einer Schwangerschaft oder bis zu fünf Monate nach Geburt des Kindes bei der Mutter auftritt. Sie wird als Sonderform der DCM aufgefasst (Elliott et al. 2008).

1.1.2 Ätiologie und Pathogenese

Die Ursachen einer Myokarditis können vielfältig sein. Insgesamt dominieren die infektiösen Formen. In den westlichen Industrieländern werden Myokarditiden heutzutage meist durch Viren verursacht. Von verschiedenen Arbeitsgruppen wurden mittels Polymerase-Kettenreaktion (PCR) am häufigsten Parvovirus B19, humanes Herpesvirus Typ 6, Cytomegalievirus, Epstein-Barr-Virus, Enteroviren – insbesondere Coxsackie-Virus Typ B – und Adenoviren im Myokard nachgewiesen (Maisch und Pankuweit 2012, Kuhl et al. 2003b, Kuhl et al. 2005b). Dagegen ist in Mittel- und Südamerika das Protozoon

Trypanosoma cruzi ein häufiger Auslöser einer Myokarditis im Rahmen der Chagas-Krankheit (Punukollu et al. 2007).

Zu den selteneren nichtinfektiösen Formen der Myokarditis zählen die durch systemische Autoimmunerkrankungen, Hypersensitivitätsreaktionen oder ein hypereosinophiles Syndrom verursachten Myokarditiden und die Riesenzellmyokarditis. Mögliche exogene Auslöser einer Myokarditis sind Alkohol, verschiedene Medikamente und eine Bestrahlung (Sagar et al. 2012).

Die DCM kann verschiedenartige Ursachen haben. In etwa 50 % der Fälle wird kein Auslöser gefunden und die Erkrankung als idiopathische oder familiäre, genetisch bedingte Kardiomyopathie eingestuft. Bei 9–12 % der Patienten lässt sich histologisch eine Myokarditis diagnostizieren, bei 7–11 % eine koronare Herzkrankheit und bei 4–5 % eine PPCM; weitere mögliche Ursachen sind eine Amyloidose, Hypertonie, eine HIV-Infektion und Alkoholmissbrauch (Felker et al. 2000b, Kasper et al. 1994). In Mittel- und Südamerika wird die DCM am häufigsten durch die Chagas-Krankheit verursacht. Im Jahr 2006 waren 7,6 Millionen Mensch daran erkrankt; 20–50 % der Betroffenen entwickeln im Verlauf eine DCM (Malik et al. 2015, Schofield und Dias 1999).

Als Ursache der idiopathischen DCM vermutet man u. a. genetische Veränderungen, die für 20–50 % der Fälle verantwortlich sein sollen. Die zugrunde liegenden Mutationen sind sehr heterogen. Der autosomal-dominante Vererbungsmodus kommt mit ca. 56 % am häufigsten vor. Derzeit sind in mehr als 20 Genen Mutationen bekannt, die zu einer DCM führen können. Diese Gene kodieren bspw. für die Proteine Dystrophin, Aktin oder Myosin, die u. a. Bestandteile des Zytoskeletts und der Zellmembran sind. Die Penetranz der genetischen Veränderungen ist hoch variabel (Burkett und Hershberger 2005, Hershberger et al. 2009, Mestroni et al. 1999).

Nach einem aus tierexperimentellen Ansätzen abgeleiteten Modell verläuft die virusinduzierte Myokarditis in drei Phasen (Kawai 1999, Kindermann et al. 2012):

- Akute Phase (einige Tage): Eindringen des Virus in die Myozyten, Replikation
- Subakute Phase (Wochen–Monate): Aktivierung des Immunsystems mit Infiltration von Abwehrzellen (zunächst natürliche Killerzellen und Makrophagen, später T-Lymphozyten), Freisetzung von Zytokinen und Bildung von Antikörpern gegen das Virus und ggf. gegen körpereigene Antigene

- Chronische Phase (Wochen–Monate): Virus persistiert oder ist eliminiert worden; Infiltrate und Antikörper noch vorhanden; Ausheilung oder Chronifizierung im Sinne einer DCMi

Es wird angenommen, dass die virale Myokarditis ein häufiger Ausgangspunkt für die Entstehung einer DCM ist (vgl. Kap. 1.1.6), wobei Entzündungsprozesse im Myokard eine wichtige Rolle in der Pathogenese spielen. Gestützt wird diese Annahme u. a. dadurch, dass mit der Immunhistologie (vgl. Kap. 1.2.3.2) bei Patienten mit ungeklärter Kardiomyopathie in bis zu ca. 60 % der Fälle eine intramyokardiale Entzündung nachgewiesen werden kann – im Gegensatz zum oben erwähnten histologischen Nachweis einer Myokarditis in nur 9 % der Fälle (Noutsias et al. 1999, Borst et al. 2014, Felker et al. 2000b).

Die intramyokardiale Entzündung beruht auf infektiösen und autoimmunen Mechanismen, die zur Aufrechterhaltung der Entzündung und Schädigung des Myokards führen. Zu den infektiösen Mechanismen gehört die Zerstörung von Myozyten direkt durch das Virus oder indirekt durch die Immunantwort gegen die vom Virus befallenen Zellen. Eine Besonderheit stellt das Cocksackie-Virus dar: Eine von ihm exprimierte Protease spaltet Dystrophin, was zur Destabilisierung der Zellmembran führt. Autoimmune Prozesse werden durch das Virus getriggert. Es werden Autoantikörper z. B. gegen Myosin oder T-Helfer-Lymphozyten gebildet. Weiterhin kann eine molekulare Mimikry auftreten: Eine Immunantwort richtet sich dabei gegen ein virales Antigen, das einem Antigen der Myozyten gleicht. Es wird in der Folge ebenso Ziel der Immunantwort wie das Virus selbst (Schulz-Menger et al. 2007, Badorff et al. 2000, Malkiel et al. 1996).

Eine chronische Myokarditis kann über andauernde Myozytolysen und die damit verbundene Zerstörung funktionsfähigen Gewebes über die beschriebenen Prozesse zur Ausbildung einer DCM führen. Dabei dominieren entweder bei Persistenz des Virus im Myokard die infektiösen Mechanismen (Wessely et al. 1998, Pauschinger et al. 1999) oder nach Elimination des Erregers die Autoimmunität (Gauntt et al. 1995). Beide führen zum Umbau des Myokardgewebes, dem kardialen *remodeling*. Sie können prinzipiell auch gleichzeitig bestehen (Caforio et al. 1997).

Es wird angenommen, dass sowohl für die Entwicklung einer viralen Myokarditis als auch für die Ausbildung der Autoimmunität eine genetisch determinierte Suszeptibilität besteht (Lim et al. 2006, Malkiel et al. 1996).

Einen Überblick über die erläuterten pathogenetischen Vorgänge und den Verlauf der Myokarditis gibt Abbildung 1.

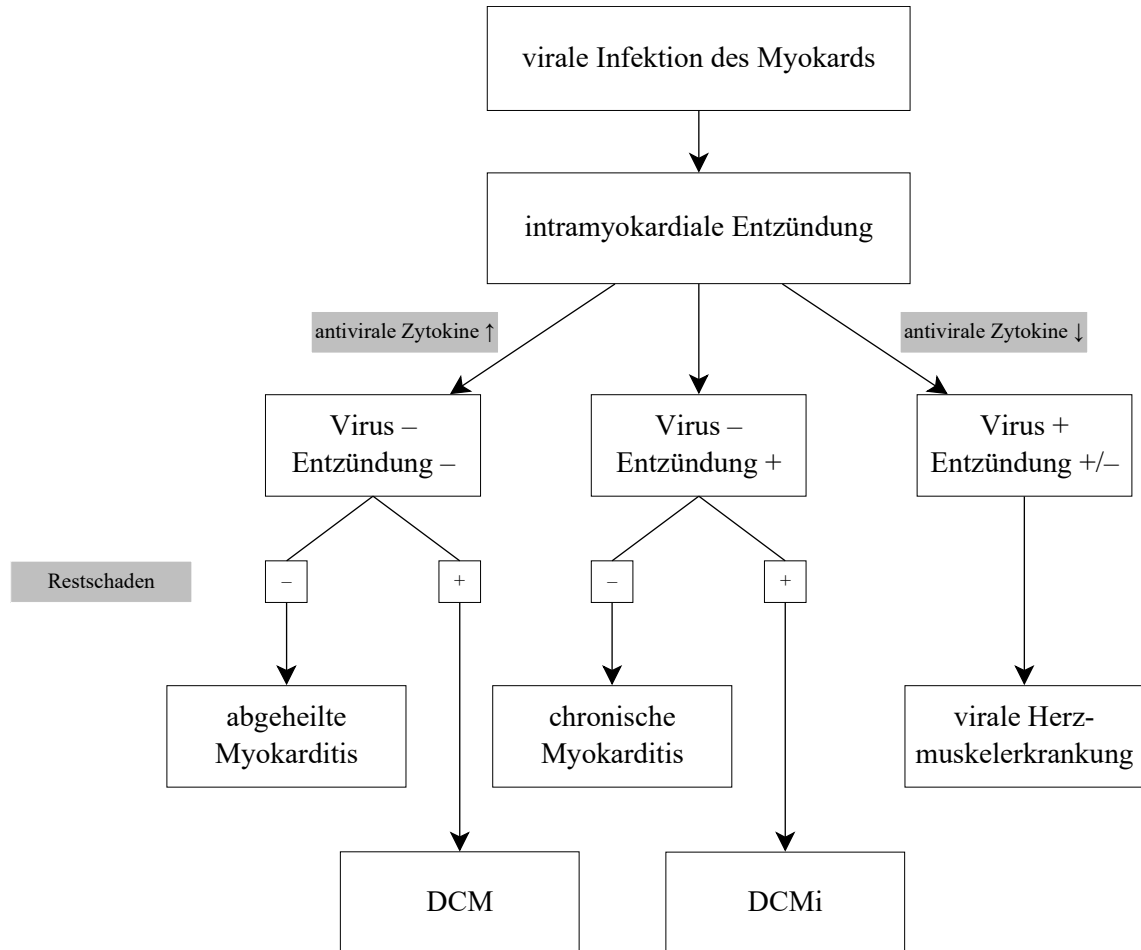


Abb. 1: Verlauf der viralen Myokarditis

Bei Elimination des verursachenden Virus vor Eintritt größerer Schäden heilt die Erkrankung häufig folgenlos ab. Wird das Myokard stark geschädigt oder persistieren das Virus und/oder die Entzündungsreaktion, kommt es zum chronischen Verlauf.

↑ = hoch, ↓ = niedrig, + = vorhanden, nachweisbar, - = nicht vorhanden, nicht nachweisbar, DCM = dilatative Kardiomyopathie, DCMi = inflammatorische Kardiomyopathie. Verändert nach Böhm et al. (2009).

1.1.3 Klinische Symptomatik

Eine Myokarditis kann durch ein breites Spektrum von Symptomen auffällig werden, welches von asymptomatischen bis hin zu letalen Verläufen reicht (vgl. Abb. 2). Initial treten häufig Zeichen einer Infektion des oberen Respirations- oder Gastrointestinaltrakts auf. Bei kardialer Beteiligung kann sich nach ca. einer Woche ein klinisches Bild ähnlich dem eines akuten Myokardinfarkts, einer Perikarditis oder einer progressiven Herzinsuffizienz zeigen. Thoraxschmerzen sind das häufigste Symptom, aber auch nur unspezifische Zeichen wie Fieber, Abgeschlagenheit, Muskel- und Kopfschmerzen sind möglich. In der klinischen Untersuchung können eine Tachykardie, Arrhythmien, eine Kardiomegalie, Herzgeräusche oder ein perikardiales Reiben auffällig sein (Woodruff 1980, Kuhl et al. 2003b).

Die DCM zeigt sich klinisch v. a. durch die progrediente Herzinsuffizienz in Form von zunehmender Belastungs- bis Ruhedyspnoe, pulmonaler Stauung, Beinödemen, Lebervergrößerung und gestauten Halsvenen. Initial treten häufig Palpitationen oder ein thorakales Engegefühl bis hin zu Angina pectoris auf. Ein Drittel der Patienten leidet an allgemeiner Abgeschlagenheit. Eine Trikuspidal- oder Mitralinsuffizienz kann Herzgeräusche verursachen (Maisch et al. 2002, Taylor et al. 2006). Herzrhythmusstörungen, insbesondere Vorhofflimmern, sind relativ häufig (Kumar et al. 2015).

1.1.4 Diagnostik

Aufgrund der unspezifischen Symptomatik von Myokarditis und DCM sollte bei entsprechendem klinischem Verdacht eine gezielte Diagnostik erfolgen, um insbesondere die koronare Herzkrankheit, Herzklappenfehler, Hypertonie und extrakardiale Erkrankungen als Ursachen für das Beschwerdebild ausschließen zu können (Caforio et al. 2013, Richardson et al. 1996).

Wichtige diagnostische Verfahren mit möglichen Befunden sind in Tabelle 1 aufgeführt.

Tabelle 1: Wichtige diagnostische Verfahren bei Myokarditis und DCM mit möglichen Befunden

| Diagnostisches Verfahren | Myokarditis | DCM |
|----------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| (LZ-)EKG | unspezifisch, wenig sensitiv; Veränderungen häufig, u. a. Schenkelblock, ST-Strecken- und T-Wellenveränderungen (unspezifisch oder wie bei Myokardinfarkt), AV-Block, (supra)ventrikuläre Tachykardie, Kammerflimmern, Sinusarrest, Vorhofflimmern ^{1, 2} | unspezifisch; u. a. Schenkelblock, AV-Block, Vorhofflimmern, (supra)ventrikuläre Tachykardie, Bradykardie, Sinusknotendysfunktion ³ |
| Echokardiographie | unspezifisch; Ausschluss anderer Ursachen: Beurteilung von systolischer und diastolischer Funktion, Wanddicke, Größe der Ventrikel, Klappenfunktion, Perikarderguss ⁴ ; Unterscheidung zwischen akuter und fulminanter Myokarditis ⁵ | wichtigstes nichtinvasives Verfahren zur Unterscheidung der Kardiomyopathien; Dilatation der Vorhöfe und des linken oder beider Ventrikel, Wanddicke der Ventrikel normal oder reduziert, systolische und diastolische Funktionsstörung, linksventrikuläre Thromben, relative Mitral- oder Trikuspidalinsuffizienz ⁶ |
| Röntgen Thorax | Dilatation des linken oder beider Ventrikel, pulmonale Stauung ⁷ | |
| Koronarangiographie | kein Nachweis einer koronaren Herzkrankheit oder Vaskulitis, die das klinische Bild hinreichend erklären ⁷ | |
| Labor | unspezifisch; Troponin T ↑ (wenig sensitiv ⁸ ; häufiger erhöht als Kreatinkinase [CK] oder CK-MB) ⁹ , C-reaktives Protein ↑, Virusserologie: keine Aussage über myokardiale Infektion möglich ¹⁰ antikardiale Autoantikörper: noch keine klinische Routine, bedeutsam für kausale Therapieverfahren ² | unspezifisch; BNP, NT-pro-BNP ↑ ¹¹ |

Legende: (LZ-)EKG = (Langzeit-)Elektrokardiogramm, DCM = dilatative Kardiomyopathie, ↑ = erhöht.
Referenzen: ¹ Morgera et al. (1992), ² Caforio et al. (2013), ³ Kumar et al. (2015), ⁴ Kindermann et al. (2012), ⁵ Felker et al. (2000a), ⁶ Wood und Picard (2004), ⁷ Maisch et al. (2002), ⁸ Smith et al. (1997), ⁹ Lauer et al. (1997), ¹⁰ Mahfoud et al. (2011), ¹¹ Gopal und Sam (2013).

Eine weitere Möglichkeit der nichtinvasiven Diagnostik besteht in der Bildgebung des Herzens mittels Magnetresonanztomographie (*cardiac magnetic resonance*, CMR). Damit kann eine intramyokardiale Entzündung nach drei Ansätzen visualisiert werden: Nachweis eines myokardialen Ödems (A), einer frühen (B) und einer späten Kontrastmitelanreicherung (*late gadolinium enhancement*, LGE) (C). Pathophysiologisch beruhen

diese Prinzipien auf dem Vorhandensein von reversiblen Schäden des Myokards im Rahmen der Entzündungsreaktion (A), einer Hyperämie und/oder Leckage der Kapillaren (B) bzw. irreversiblen Veränderungen wie Nekrose und Fibrose (C). Positive Befunde nach den Ansätzen (A) und (B) können fokal oder global im Myokard verteilt sein. Um auch globale Anreicherungen erfassen zu können, wird das Ergebnis zu dem eines mit abgebildeten Skelettmuskels ins Verhältnis gesetzt. Das LGE (C) tritt meist subepikardial auf – im Gegensatz zu meist subendokardial lokalisierten ischämischen Läsionen. Eine myokardiale Entzündung wird nach den so genannten *Lake-Louise*-Kriterien angenommen, wenn nach mindestens zwei der drei erläuterten Ansätze ein positiver Befund vorliegt (Friedrich et al. 2009).

Nach aktueller Empfehlung kann eine CMR-Bildgebung bei Patienten in stabilem Zustand durchgeführt werden, um den Verdacht auf eine Myokarditis zu erhärten; u. U. lässt sich die Sensitivität einer EMB durch Auswahl der Entnahmestellen anhand der CMR-Bilder erhöhen (vgl. Kap. 1.2.2). Auch für Verlaufskontrollen einer bioptisch nachgewiesenen Myokarditis ist die CMR geeignet (Caforio et al. 2013, Mahrholdt und Sechtem 2016).

Die aufgeführten nichtinvasiven diagnostischen Verfahren eignen sich gut, um den Verdacht auf eine Myokarditis bzw. DCMi zu erhärten. Allerdings kann einzig anhand der Untersuchung von Endomyokardbiopsaten (EMBs; vgl. Kap. 1.2) die definitive Diagnose einer intramyokardialen Entzündung gestellt werden, weshalb die EMB-Diagnostik als der Goldstandard angesehen wird. Zudem können mit keiner anderen Methode infiltrierende Zellen phänotypisch charakterisiert und eine Unterscheidung zwischen infektiöser oder autoimmuner Genese der Entzündungsreaktion getroffen werden. Dies ist u. a. bei der Auswahl kausaler Therapieverfahren von Bedeutung (vgl. Kap. 1.3; Caforio et al. 2013, Kindermann et al. 2012, Leone et al. 2012).

1.1.5 Therapie

Myokarditis und DCM können zu einer akuten oder chronischen Herzinsuffizienz führen. Deren Behandlung richtet sich – unabhängig von der Ursache – nach den Leitlinien zur Therapie der Herzinsuffizienz (Caforio et al. 2013): Bei der chronischen Form kommen neben medikamentösen Maßnahmen die kardiale Resynchronisationstherapie (CRT) und die prophylaktische Implantation eines Kardioverter-Defibrillators (ICD) zum Einsatz.

Patienten mit akuter Herzinsuffizienz sollten intensivmedizinisch versorgt werden. Bei Versagen aller therapeutischen Maßnahmen ist die Herztransplantation die Ultima Ratio (McMurray et al. 2012).

Patienten mit Myokarditis wird in der akuten Phase und in den darauf folgenden sechs Monaten eine körperliche Schonung empfohlen (Basso et al. 2007, Pelliccia et al. 2005). Kausale Therapieansätze bei Myokarditis und DCM werden in Kapitel 1.3 besprochen.

1.1.6 Verlauf, Komplikationen und Prognose

Eine Myokarditis kann fulminant, akut oder chronisch verlaufen. Patienten mit fulminanter Verlaufsform zeigen eine sich rasch entwickelnde, ausgeprägte kardiale Dysfunktion. Akute Myokarditiden können asymptomatisch bleiben oder subklinisch verlaufen, ohne diagnostiziert zu werden. Ebenso wie die chronische Form können sie aber auch durch Symptome der Herzinsuffizienz auffällig werden (Lieberman et al. 1991, McCarthy et al. 2000).

Wichtige Komplikationen der akuten Myokarditis sind die Herzinsuffizienz und Herzrhythmusstörungen, die im schlimmsten Fall zum plötzlichen Herztod führen können. Patienten mit chronischer Myokarditis entwickeln innerhalb von 33 Monaten in 21 % der Fälle eine DCM (D'Ambrosio et al. 2001).

Die verschiedenen klinischen Präsentationen der akuten Myokarditis und ihr Verlauf sind in Abbildung 2 dargestellt.

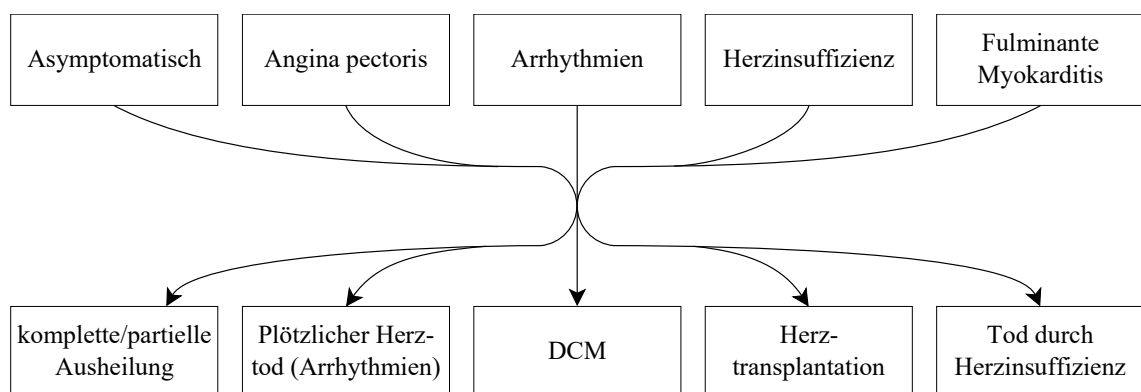


Abb. 2: Verschiedene klinische Präsentationen der akuten Myokarditis und ihr möglicher Verlauf
DCM = dilatative Kardiomyopathie. Übersetzt und verändert nach D'Ambrosio et al. (2001) und Noutsias und Maisch (2014).

Verschiedene klinische Parameter beeinflussen die Prognose der Myokarditis negativ. Dazu zählen: EKG mit QRS-Dauer von mehr als 120 Millisekunden (Ukena et al. 2011), niedriger Blutdruck (Mahfoud et al. 2012), echokardiographisch nachweisbare biventrikuläre Dysfunktion (Caforio et al. 2007), Klasse III oder IV nach *New York Heart Association* (NYHA) und fehlende Medikation mit β -Blockern. Darüber hinaus ist auch der immunhistologische Nachweis einer intramyokardialen Entzündung mit einer ungünstigen Prognose assoziiert. Dagegen zeigen die Untersuchungen von EMBs mittels Histologie und auf Virusgenome keinen Einfluss auf die Prognose (Kindermann et al. 2008). Die fulminante Myokarditis hat trotz der ausgeprägten Symptomatik in der Akutphase eine bessere Langzeitprognose als die akute Verlaufsform. Innerhalb von elf Jahren nach einer akuten Myokarditis überleben nur 45 % der Patienten ohne Herztransplantation (McCarthy et al. 2000).

Die DCM kann im Verlauf zu progredienter Herzinsuffizienz führen, die neben dem plötzlichen Herztod die wichtigste Todesursache darstellt. Die Überlebensrate innerhalb von acht Jahren beträgt 47 % (Andersson et al. 1995). Derzeit ist die DCM mit einem Anteil von ca. 56 % der Betroffenen der häufigste Grund für eine Herztransplantation (Lund et al. 2015).

Die Prognose der DCM wird u. a. durch die Ätiologie bestimmt: So verläuft bspw. die PPCM günstiger als die idiopathische DCM (Felker et al. 2000b). Bestimmte klinische Parameter wie eine hohe NYHA-Klasse, schlechte linksventrikuläre Funktion oder ein erhöhtes Troponin T sind mit einer schlechteren Prognose assoziiert (Cowburn et al. 1998, Sato et al. 2001). Im Gegensatz zur Myokarditis ist die Persistenz von Coxsackieviren im Myokard bei DCM mit einer schlechteren Prognose verbunden (Fujioka et al. 2000). Hinsichtlich des Parvovirus B19 ist die Datenlage nicht eindeutig: Es wird angenommen, dass es lebenslang im Myokard und anderen Geweben (Norja et al. 2006) persistieren kann, ohne eine prognostische oder biologische Relevanz zu haben. Seine Nachweisbarkeit korreliert nicht mit der klinischen Symptomatik und führt nicht zu einer schlechteren Prognose (Greulich et al. 2016, Kueth et al. 2009, Schenk et al. 2009).

1.2 Endomyokardbiopsien (EMBs)

1.2.1 Indikation

Nach aktueller Expertenempfehlung der *European Society of Cardiology* (ESC) sollte bei klinischem Verdacht auf Myokarditis u. a. aus Gründen der Diagnosesicherung eine EMB durchgeführt werden (Caforio et al. 2013).

Die Empfehlungen zur EMB-Diagnostik bei allen Formen der chronischen Herzinsuffizienz einschließlich DCM sind uneinheitlich: Während nach einer gemeinsam von ESC, *American College of Cardiology Foundation* (ACCF) und *American Heart Association* (AHA) herausgegebenen Veröffentlichung eine EMB in nur wenigen definierten klinischen Szenarios indiziert war (Cooper et al. 2007), wird in einem aktuellen Positionspapier der ESC ein weiter Rahmen für die Indikationsstellung bei Verdacht auf akute oder chronische Myokarditis gegeben (Caforio et al. 2013); in den aktuellen Leitlinien von ACCF und AHA wird keine EMB in der Routine-Diagnostik bei Herzinsuffizienz empfohlen (Yancy et al. 2013).

1.2.2 Durchführung

Die Durchführung einer EMB in der heute üblichen Art wurde erstmals 1962 beschrieben (Sakakibara und Konno 1962).

EMBs können aus dem linken oder rechten Ventrikel entnommen werden. Für rechtsventrikuläre EMBs wird die Vena femoralis oder die rechte Vena jugularis interna als Zugang genutzt, für linksventrikuläre meist die Arteria femoralis (Cooper et al. 2007); die Arteria radialis ist eine sichere und möglicherweise komplikationsärmere Alternative (Schulz et al. 2015).

Über den vaskulären Zugang wird ein Katheter eingeführt, durch den ein meist flexibles Biopptom unter Röntgenkontrolle bis zur geplanten Entnahmestelle vorgeschoben wird. Linksventrikuläre Biopsien erfolgen häufig aus der lateralen Wand, rechtsventrikuläre wegen Perforationsgefahr der dünneren freien Wand aus dem Bereich des interventrikulären Septums. Das Biopptom besitzt an seinem Ende eine kleine Zange, mit der die Gewebeprobe entnommen wird (Tschope et al. 2015). Es sollten möglichst fünf bis zehn EMBs mit einer Größe von 1–2 mm für verschiedene Untersuchungen gewonnen werden;

zusätzlich kann damit der so genannte Probenfehler (*sampling error*) minimiert werden (vgl. Kap. 1.2.3.1; Dominguez et al. 2016).

Ob links- oder rechtsventrikuläre EMBs einen größeren diagnostischen Nutzen haben, kann derzeit nicht eindeutig beantwortet werden. In einer Studie von Chimenti und Frustaci (2013) wird beschrieben, dass anhand linksventrikulärer EMBs im Vergleich zu rechtsventrikulären häufiger eine Myokarditis diagnostiziert werden konnte. In anderen Untersuchungen wurden keine Unterschiede in der Nachweishäufigkeit einer Entzündung oder von Virusgenomen zwischen links- und rechtsventrikulären EMBs festgestellt (Escher et al. 2014) bzw. zur Optimierung der Diagnostik biventrikuläre Biopsien empfohlen (Yilmaz et al. 2010).

Auch wird diskutiert, ob die Sensitivität von EMBs durch vorherige CMR-Diagnostik erhöht werden kann, indem die Biopsien aus Bereichen entnommen werden, die in der Bildgebung Auffälligkeiten zeigen. In einer Studie mit 32 Patienten konnte ein Zusammenhang zwischen Regionen mit Kontrastmittelanreicherung im MRT und positiven Biopsiebefunden hergestellt werden (Mahrholdt et al. 2004), wohingegen in einer größeren Untersuchung an 540 Patienten keine direkte Assoziation zwischen CMR- und Biopsiebefunden nachweisbar war (Yilmaz et al. 2010).

1.2.3 Auswertung

EMBs sollten nach aktueller Empfehlung der ESC histologisch, immunhistologisch und auf das Vorhandensein von Virusgenomen untersucht werden (Caforio et al. 2013).

1.2.3.1 Histologie, Dallas-Kriterien

Mithilfe der histologischen Untersuchung von EMBs können spezifische Ursachen für das Krankheitsbild eines Patienten nachgewiesen oder ausgeschlossen werden, bspw. die kardiale Sarkoidose, die Amyloidose, die Hämochromatose sowie erbliche und primäre Kardiomyopathien. Die DCMi kann mittels Histologie als lymphozytäre, granulozytäre, eosinophile, granulomatöse oder Riesenzellmyokarditis klassifiziert werden (Leone et al. 2012).

Die Diagnosestellung einer intramyokardialen Entzündung erfolgt histologisch nach den so genannten Dallas-Kriterien. Es wird zwischen einer aktiven und einer *borderline*-Myokarditis (grenzwertige Myokarditis) unterschieden. Bei beiden Formen ist der Nachweis

infiltrierender inflammatorischer Zellen obligat, fakultativ kann eine Fibrose erkennbar sein; bei der aktiven Myokarditis findet man zusätzlich Myozytolysen (Aretz et al. 1987). In Abbildung 3 sind die histologischen Befunde einer aktiven, einer Riesenzell- und einer Hypersensitivitätsmyokarditis dargestellt.

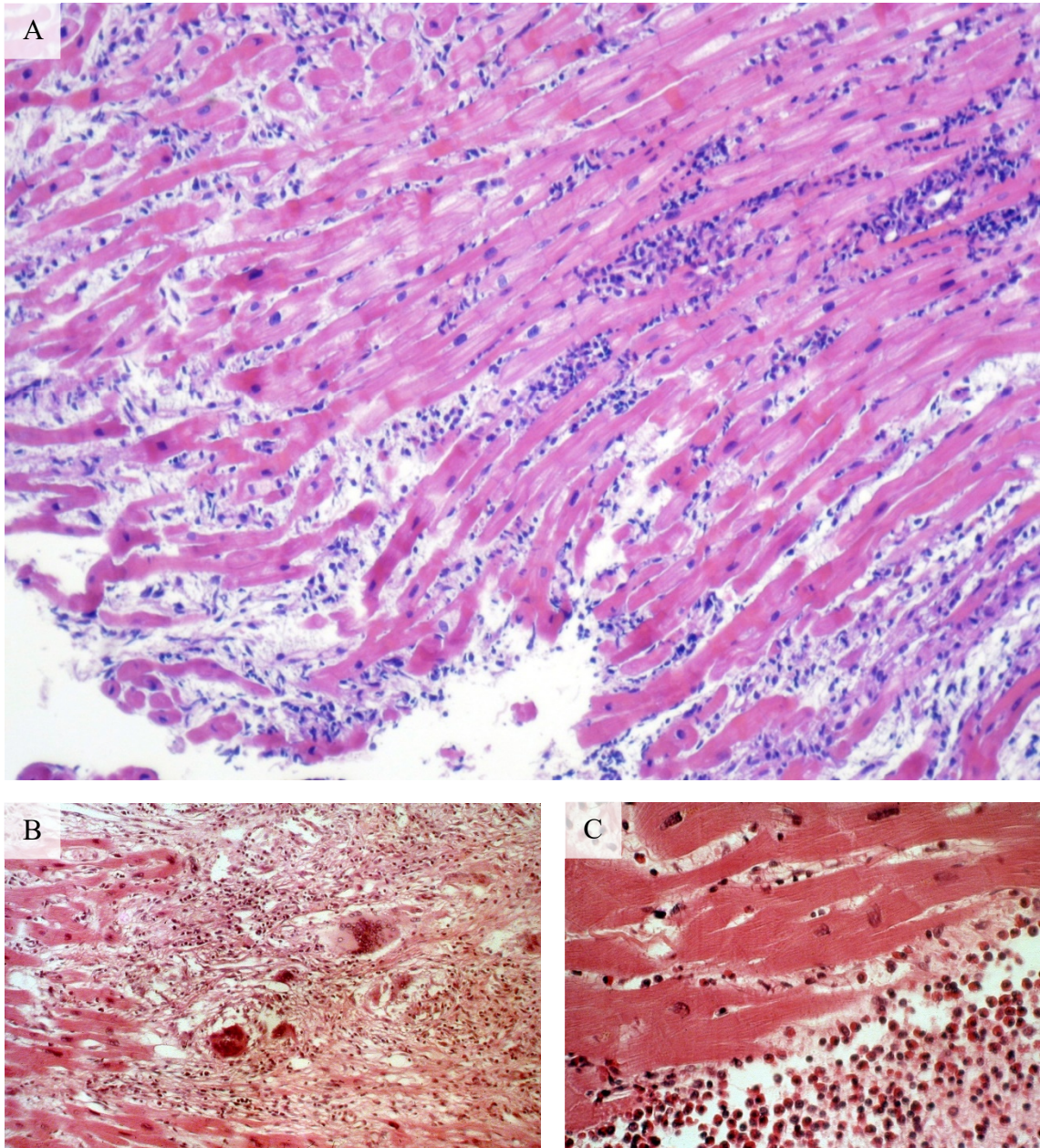


Abb. 3: Histologische Befunde bei Myokarditis

A: Aktive Myokarditis mit lymphozytärem Infiltrat und Myozytolysen; B: Riesenzellmyokarditis; C: Hypersensitivitätsmyokarditis mit eosinophilem Infiltrat. Färbung mit Hämatoxylin-Eosin, Vergrößerung 100- (A) bzw. 200fach (B, C). Aus González et al. (2013).

Der diagnostische Wert der Dallas-Kriterien wird durch zwei Probleme stark eingeschränkt: Erstens existiert ein erheblicher Probenfehler (*sampling error*). Dieser beruht auf der Tatsache, dass entzündliche Infiltrate häufig fokal im Myokard verteilt sind und durch die EMBs mitunter nicht erfasst werden. Um dieses Problem systematisch zu untersuchen, wurden in einer Studie Gewebeproben aus verschiedenen Bereichen des Myokards von nachweislich an Myokarditis Verstorbenen evaluiert: In nur 17 % der Proben aus dem rechten und 20 % der Proben aus dem linken Ventrikel konnte eine Entzündung histologisch nachgewiesen werden (Hauck et al. 1989). Zweitens ist das Ergebnis der Befundung der EMBs nach den Dallas-Kriterien stark vom Untersucher abhängig (*inter-observer*-Variabilität): Dies konnte sowohl für Patienten mit DCM (Shanes et al. 1987) als auch im Rahmen des *Myocarditis-Treatment-Trial* (vgl. Kap. 1.3.2.1) gezeigt werden: Hier wurden die Präparate von 111 Patienten mit der histologischen Diagnose Myokarditis erneut untersucht; die Diagnose konnte in nur 64 % der Fälle bestätigt werden (Mason et al. 1995). Aufgrund der geschilderten Problematik wurde der „Tod der Dallas-Kriterien“ gefordert (Baughman 2006). Trotzdem wurden und werden sie in zahlreichen Studien als Grundlage für die Diagnose einer intramyokardialen Entzündung verwendet (Mason et al. 1995, Felker et al. 2000b).

1.2.3.2 Diagnosestellung einer intramyokardialen Entzündung mittels Immunhistologie

Mit der Immunhistologie können Strukturen spezifisch nachgewiesen werden. Dazu werden Antikörper genutzt, die ausschließlich das gesuchte Zielantigen binden und es nach mehreren Arbeitsschritten farblich markieren (Leong et al. 2010).

Eine intramyokardiale Entzündung kann immunhistologisch auf zwei Wegen diagnostiziert werden: über den Nachweis von infiltrierenden Zellen (Infiltrate) oder von Zelladhäsionsmolekülen (*cell adhesion molecules*, CAMs), deren flächenhafte Expression u. a. auf Endothelzellen und in der extrazellulären Matrix durch die Entzündungsreaktion induziert wird.

Infiltrate können mikroskopisch quantifiziert werden: Dabei wird die Anzahl der Zellen entweder pro Gesichtsfeld bei 400facher Vergrößerung (*high power field*, HPF) oder umgerechnet pro mm² angegeben (Noutsias et al. 1999). CAMs werden meist semiquantita-

tiv ausgewertet (Kuhl et al. 1996, Noutsias et al. 1999). Alternativ ist auch eine automatische Quantifizierung von Infiltraten und CAMs mittels digitaler Bildanalyse möglich (Noutsias et al. 2001, Noutsias et al. 2002b).

Infiltrate

Für den Nachweis von Infiltraten werden spezifische Oberflächenmoleküle als Zielantigene genutzt: die CD-Moleküle (CD = *cluster of differentiation*). Diagnostisch wichtige CD-Moleküle sind (CD-Molekül → spezifisch für):

- CD2 = LFA-2 und CD3 → T-Lymphozyten
- CD45RA → nicht aktivierte T-Lymphozyten
- CD45RO → aktivierte T-Lymphozyten, Gedächtniszellen
- Perforin → zytotoxische T-Lymphozyten
- CD68 → Makrophagen, Monozyten (Kuhl et al. 1996, Maisch und Pankuweit 2012)

Die Diagnose einer intramyokardialen Entzündung wird von unterschiedlichen Arbeitsgruppen anhand verschiedener Kriterien mit teilweise differierenden Grenzwerten gestellt (vgl. Kap. 4.2.4.2). In Abbildung 4 ist exemplarisch der immunhistologische Nachweis von CD3+, LFA-1+ und Perforin+ Lymphozyten dargestellt.

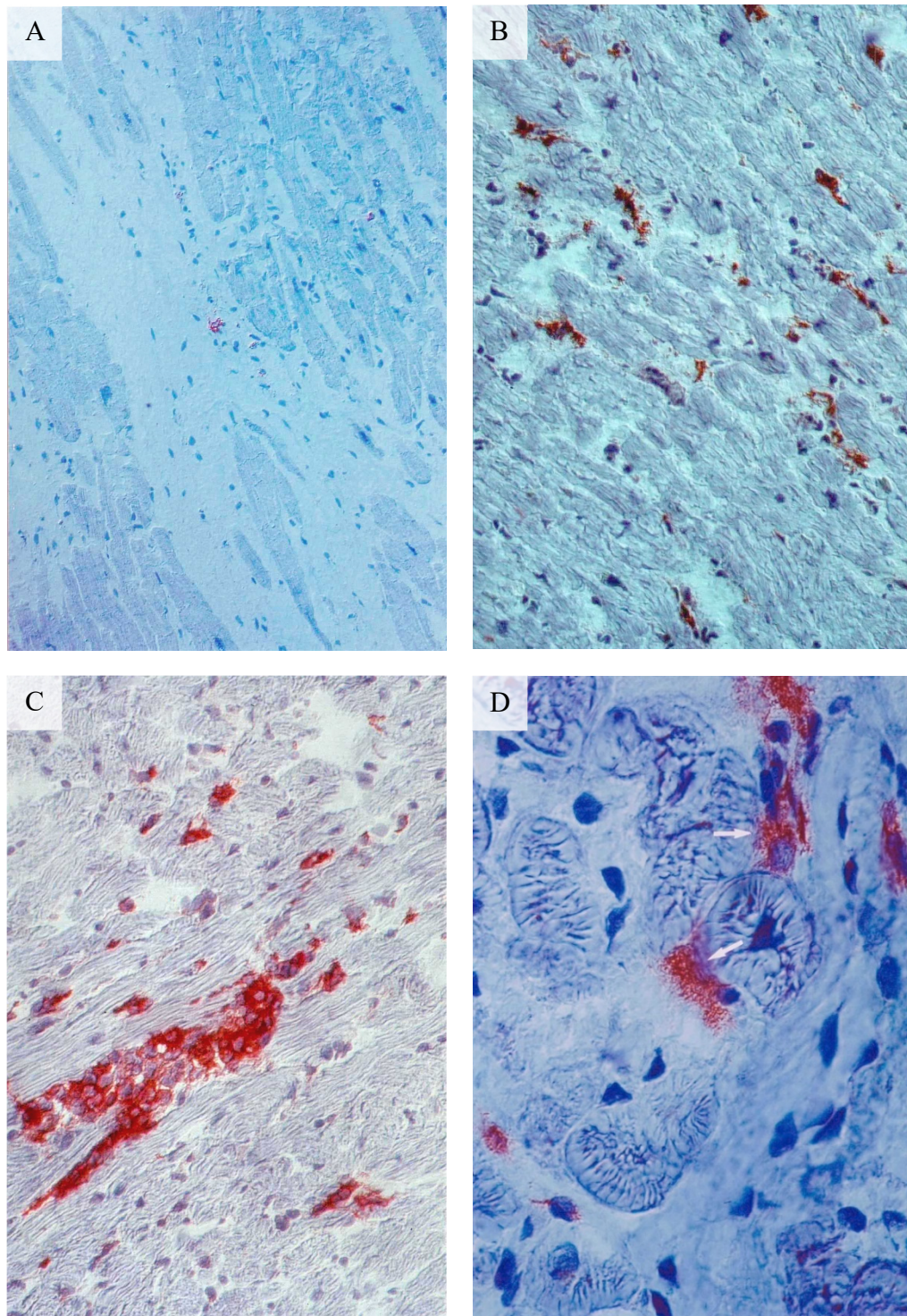


Abb. 4: Immunhistologischer Nachweis von CD3+, LFA-1+ und Perforin+ Lymphozyten

A: Geringe Infiltration mit CD3+ Lymphozyten, interstitielle Fibrose, DCM-Patient ohne immunhistologischen Nachweis einer DCMi; B: Homogen verteilte LFA-1+ Infiltrate bei immunhistologisch nachgewiesener DCMi; C: Fokal ausgeprägte Infiltration mit CD3+ Lymphozyten; D: Perforin+ zytotoxische T-Lymphozyten. Vergrößerung 200- (A), 400- (B, C) bzw. 1000fach (D). Aus Noutsias et al. (2002a) (A), Noutsias et al. (1999) (B), Noutsias und Maisch (2014) (C) und Noutsias et al. (2003a) (D).

CAMs

CAMs spielen in der Pathogenese der myokardialen Entzündungsreaktion eine wichtige Rolle: Sie sind u. a. für die transendotheliale Migration immunkompetenter Zellen verantwortlich (Springer 1990). Ihre Nachweisbarkeit korreliert mit der Dichte von Gegenrezeptor-positiven infiltrierenden Zellen.

Vertreter der CAMs, die häufig in der Diagnostik der DCMi verwendet werden, sind:

- HLA = *human leukocyte antigen*, Klassen I und II (häufig HLA-DR)
- CD54 = ICAM-1 = *intercellular cell adhesion molecule-1*
- CD29: gemeinsame β -Kette der β_1 -Integrine
- CD106 = VCAM-1 = *vascular cell adhesion molecule-1*
- CD58 = LFA-3 = *lymphocyte function antigen-3*
- CD62E, CD62P: E-Selektin, P-Selektin

Auch für die Diagnosestellung einer intramyokardialen Entzündung basierend auf dem Nachweis von CAMs variieren die Kriterien zwischen den einzelnen Studien. Häufig wird ein Präparat als entzündet eingestuft, wenn mindestens drei verschiedene CAMs nachweisbar sind (Noutsias et al. 1999).

Abbildung 5 zeigt exemplarisch den Nachweis von ICAM-1 und VCAM-1.

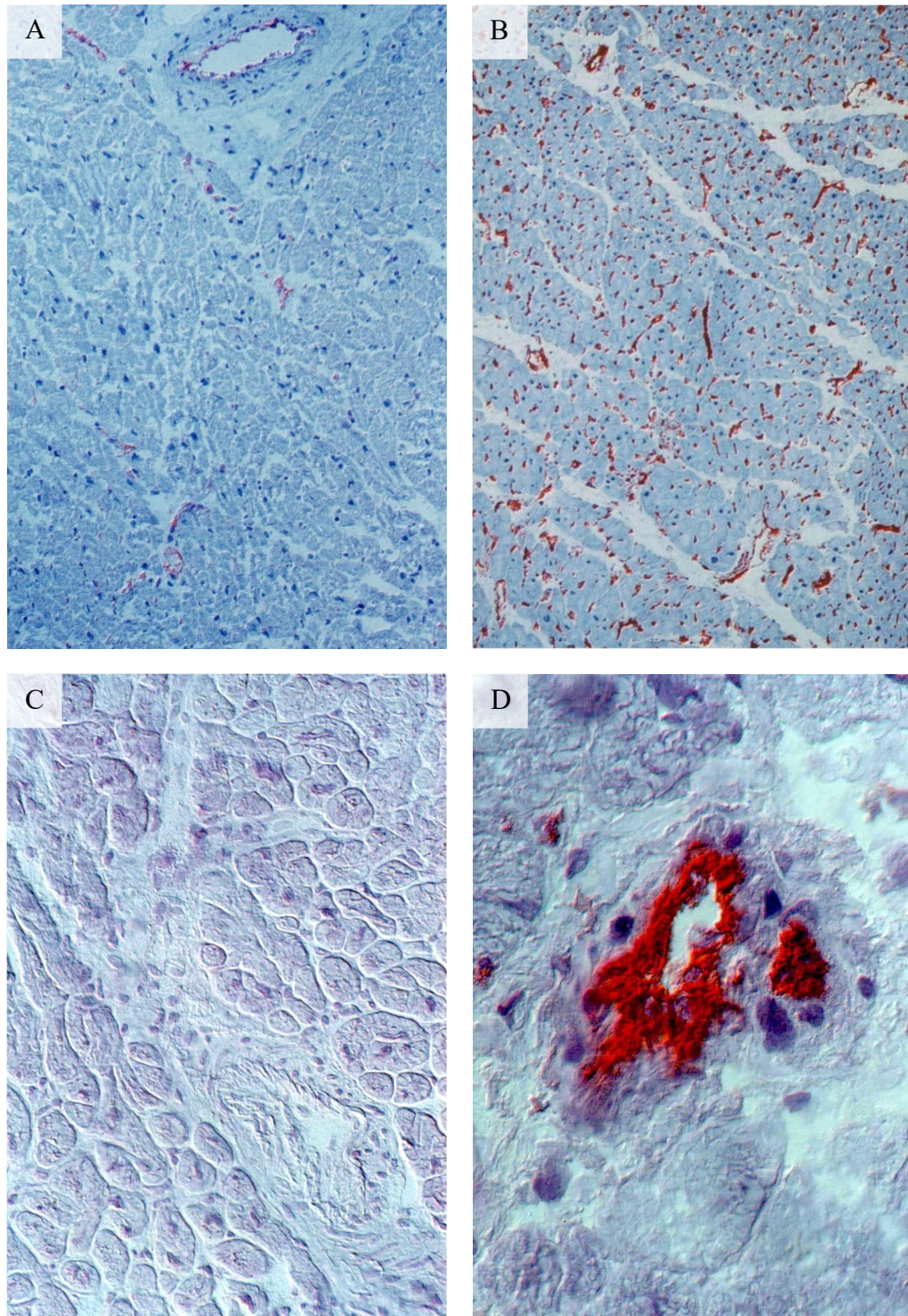


Abb. 5: Immunhistologischer Nachweis von ICAM-1 und VCAM-1

A: Gering ausgeprägte ICAM-1-Expression, interstitielle und perivaskuläre Fibrose; B: Homogene ICAM-1-Expression endothelial und interstitiell; C: Kein Nachweis von VCAM-1; D: Endotheliale Expression von VCAM-1. Vergrößerung 200- (A, B), 630- (C) bzw. 1000fach (D). Aus Noutsias et al. (2003a) (A, B) und Noutsias et al. (1999) (C, D).

1.2.3.3 Nachweis von Virusgenomen

Mithilfe der PCR können in EMBs Virusgenome nachgewiesen werden. Häufig nachweisbare Viren sind in Kapitel 1.1.2 aufgelistet; bspw. findet man Enteroviren bei 23 % der Patienten mit Myokarditis oder DCM (Baboonian und Treasure 1997). Auch gleichzeitige Infektionen mit mehreren Viren sind möglich (Kuhl et al. 2005b).

Die Untersuchung auf Virusgenome hat v. a. im Hinblick auf immunsuppressive und antivirale Therapieverfahren bei DCMi einen besonderen Stellenwert (vgl. Kap. 1.3).

1.2.4 Komplikationen

Komplikationen bei der EMB-Entnahme werden in die Kategorien *major* und *minor* unterteilt. Zu den *major*-Komplikationen zählen bspw. Tod, Perforation mit Perikardtamponade, pulmonale oder zerebrale Embolisation und ein permanenter AV-Block. Die *minor*-Komplikationen umfassen u. a. vorübergehende Herzrhythmusstörungen, Thoraxschmerzen, ein intramyokardiales Hämatom sowie eine Fistel- oder Hämatombildung an der Einstichstelle (Chimenti und Frustaci 2013).

Die Komplikationsrate ist insgesamt gering: In einer Studie traten bei 3048 rechtsventrikulären EMB-Prozeduren in 0,098 % der Fälle *major*- und in 2,3 % der Fälle *minor*-Komplikationen auf (Holzmann et al. 2008). In einer anderen Untersuchung wurden bei 6617 EMB-Prozeduren Biopsien aus dem linken oder rechten Ventrikel entnommen; dabei kam es in 0,39 % der Fälle zu *major*- und in 1,8 % der Fälle zu *minor*-Komplikationen. Es gab – abgesehen von Komplikationen an der Einstichstelle – keinen signifikanten Unterschied in der Komplikationshäufigkeit zwischen links- und rechtsventrikulärer Biopsieentnahme (Chimenti und Frustaci 2013). In keiner der beiden Studien kam es zum Tod eines Patienten.

1.3 Kausale, immunmodulatorische Therapieverfahren bei Myokarditis und DCM/DCMi

1.3.1 Allgemeine Aspekte

Die in Kapitel 1.1.5 beschriebenen Therapieansätze richten sich gegen allgemeine Mechanismen der Herzinsuffizienz. Zusätzlich angewandte kausale Therapieverfahren sollen die bekannte pathogenetische Assoziation zwischen Myokarditis und DCM bzw. DCMi, die intramyokardiale Entzündung, als Angriffspunkt nutzen, um den Verlauf der Erkrankungen positiv zu beeinflussen.

Die Ausführungen in Kapitel 1.3.2 beziehen sich auf primär viral ausgelöste Myokarditiden. Rein autoimmune Formen wie die kardiale Sarkoidose, Myokarditiden im Rahmen systemischer Autoimmunerkrankungen (Caforio et al. 2013) sowie die Riesenzellmyokarditis (Cooper et al. 2008) werden immunsuppressiv therapiert.

1.3.2 Spezielle Therapieverfahren

1.3.2.1 Immunsuppression

Die Wirksamkeit einer immunsuppressiven Therapie bei Myokarditis und DCM konnte in verschiedenen monozentrischen Studien belegt werden; eine intramyokardiale Entzündung wurde dabei jeweils immunhistologisch diagnostiziert. Patienten mit Myokarditis profitieren v. a. dann, wenn antikardiale Autoantikörper im Serum und keine Virusgenome im Myokard nachweisbar sind (Frustaci et al. 2003). Die Wirksamkeit einer Immunsuppression konnte in der randomisierten, placebokontrollierten *TIMIC*-Studie bei virusnegativer DCMi bestätigt werden (Frustaci et al. 2009). Dagegen wurde in einer anderen Untersuchung gezeigt, dass Patienten mit immunhistologisch nachgewiesener DCMi auch unabhängig von der – in dieser Studie nicht untersuchten – Nachweisbarkeit intramyokardialer Virusgenome von einer Immunsuppression profitieren (Wojnicz et al. 2001).

Im *Myocarditis-Treatment-Trial* (Mason et al. 1995), einer der größten randomisierten, placebokontrollierten Studien zur Myokarditis, konnte kein positiver Effekt einer Immunsuppression nachgewiesen werden. Allerdings gab es in der Kontrollgruppe einen hohen Anteil von Patienten mit spontaner Besserung. Dieser günstige Spontanverlauf, der sich bei einem großen Teil der Betroffenen beobachten lässt, sollte abgewartet werden, bevor

Patienten immunmodulatorisch therapiert werden (Noutsias 2014, Amabile et al. 2006). Außerdem basierte die Diagnose im *Myocarditis-Treatment-Trial* auf den Dallas-Kriterien (vgl. Kap. 1.2.3.1), und eine Untersuchung der EMBs auf Virusgenome wurde nicht vorgenommen; so wurden mitunter Patienten mit aktiver Virusinfektion immunsuppressiv behandelt, was ihre Erkrankung verschlechtern könnte (Kindermann et al. 2012). Die Ergebnisse des *Myocarditis-Treatment-Trial* führten im nordamerikanischen Raum zu einer Restriktion diagnostischer EMBs (Maisch et al. 1995).

1.3.2.2 Immunmodulation, antivirale Therapie

Während die Immunsuppression v. a. bei Patienten ohne Nachweis von Virusgenomen im Myokard in Betracht gezogen wird, eignen sich immunmodulatorische, antivirale Therapieansätze prinzipiell auch bei myokardialer Viruspersistenz. Eingesetzt werden u. a. Interferon- β , intravenöse Immunglobuline (IVIG) und die Immunadsorption. Wegen fehlender multizentrischer, randomisierter Untersuchungen wird derzeit keines dieser Verfahren standardmäßig empfohlen (Caforio et al. 2013).

Interferon- β hat bei Patienten mit Persistenz von Entero- oder Adenoviren eine immunmodulatorische Wirkung, die zur Viruselimination und Verbesserung von Herzfunktion und Prognose führen kann (Kuhl et al. 2003a, Kuhl et al. 2012).

IVIG wirken über verschiedene Mechanismen; u. a. können sie Autoantikörper neutralisieren und das Gleichgewicht zirkulierender Zytokine günstig beeinflussen. Bei länger bestehender DCM konnte unter der Therapie mit IVIG eine Verbesserung der Herzfunktion (Gullestad et al. 2001) und bei Patienten mit Nachweis von Parvovirus B19 zusätzlich eine Senkung der Viruslast erreicht werden (Dennert et al. 2010). Diese positiven Effekte ließen sich jedoch nicht bei neu diagnostizierter DCM – ohne Klassifizierung der Patienten nach ihren EMB-Befunden – nachweisen (McNamara et al. 2001).

Bei der Immunadsorption werden Antikörper vom Typ Immunglobulin G (IgG) aus dem Serum des Patienten entfernt und anschließend durch Antikörper von Spendern ersetzt. Die Wirkung beruht auf der Eliminierung antikardialer Autoantikörper, die zur Chronifizierung der DCMi beitragen, und verschiedenen Effekten der Spender-IgGs auf das Immunsystem des Empfängers (Felix et al. 2000). In verschiedenen Studien wurde gezeigt, dass die Immunadsorption bei Patienten mit DCM zur Verbesserung von Herzfunktion, NYHA-Klasse und spiroergometrischer Leistungsfähigkeit führt und antikardiale Autoantikörper effektiv eliminiert werden (Felix et al. 2000, Muller et al. 2000, Herda et al.

2010, Felix et al. 2002). Außerdem führt die Therapie zu einem Rückgang einer immunhistologisch quantifizierten intramyokardialen Entzündung (Staudt et al. 2001). Auch bei Patienten mit DCMi wurde durch die Immunadsorption eine Verbesserung der Herzfunktion erzielt (Bulut et al. 2010). Zurzeit wird eine multizentrische, randomisierte, doppelblinde, prospektive Studie zur Immunadsorption bei Patienten mit DCM durchgeführt (U.S. National Institutes of Health 2016).

1.3.3 Bedeutung der EMB-Diagnostik für kausale Therapieansätze

Wie in Kapitel 1.3.2 dargelegt wurde, existieren für Myokarditis und DCM/DCMi kausale Therapieverfahren mit vielversprechenden Ergebnissen. Entscheidende Bedeutung hat die Selektion von Patienten, die von einem solchen Verfahren profitieren. Diese Selektion ist im Hinblick auf eine ätiologisch ausgerichtete Therapie weder anhand klinischer Parameter noch mit der CMR-Bildgebung möglich, sondern nur mittels EMB-Diagnostik (Caforio 2013, Noutsias und Maisch 2014, Noutsias et al. 2004):

Erstens lassen sich Patienten bezüglich des Vorhandenseins einer intramyokardialen Entzündung unterscheiden. Dabei ist der hohe Stellenwert der Immunhistologie hervorzuheben: Durch Anwendung der auf der Histologie beruhenden Dallas-Kriterien ergibt sich weder eine Konsequenz für die Prognose (Grogan et al. 1995, Kindermann et al. 2008) noch lässt sich das Ansprechen auf eine immunsuppressive Therapie vorhersagen (Mason et al. 1995). Dagegen konnten unter Verwendung der Immunhistologie in zwei randomisierten Studien erfolgreich Patienten selektiert werden, die von einer Immunsuppression profitieren (Wojnicz et al. 2001, Frustaci et al. 2009). Der immunhistologische Entzündungsnachweis geht zudem mit einer schlechteren Prognose einher (Kindermann et al. 2008). Trotz dieser Vorteile existiert derzeit weder für die zu verwendende immunhistologische Technik noch für das Verfahren zur Auswertung ein einheitliches Protokoll. Je nach Forschungsgruppe werden für die Diagnosestellung unterschiedliche Infiltrat-Phänotypen und CAMs nachgewiesen und verschiedene Grenzwerte verwendet. Des Weiteren nutzen nicht alle Arbeitsgruppen ein digitales Bildanalysesystem zur Quantifizierung der immunhistologisch angefärbten Zielstrukturen, was insbesondere bei der Auswertung der visuell nur semiquantitativ einschätzbaren CAMs-Expression vorteilhaft wäre (Noutsias et al. 2002b, Noutsias et al. 2003b, Noutsias et al. 2008, Noutsias und Maisch 2014).

Zweitens können Patienten danach selektiert werden, ob Virusgenome im Myokard nachweisbar sind oder nicht. Dies hat Konsequenzen für die Wahl des Therapieverfahrens und die Prognose (Frustaci et al. 2003, Kuhl et al. 2012, Kuhl et al. 2005a).

1.4 Metaanalysen

Metaanalysen und systematische Übersichtsarbeiten (*systematic reviews*) dienen der Zusammenfassung wissenschaftlicher Erkenntnisse zu einem Thema anhand bereits veröffentlichter Studien; dazu werden in Metaanalysen statistische Methoden verwendet, mit denen die Ergebnisse einzelner Arbeiten zusammengeführt und kombiniert werden (Liberati et al. 2009).

Dies kann nach zwei Modellen erfolgen: Bei dem Modell mit festem Effekt (*fixed-effect model*) wird davon ausgegangen, dass alle Studien prinzipiell den gleichen Effekt messen. Unterschiede beruhen auf der Ungenauigkeit einzelner Studien. Je mehr Teilnehmer eine Untersuchung hat, desto größer ist ihr Anteil am Gesamtergebnis. Das Modell mit zufälligen Effekten (*random-effects model*) beruht auf der Annahme, dass die einzelnen Studien verschiedene Effekte messen. Zusätzlich zur Ungenauigkeit einzelner Studien werden Unterschiede auch durch die verschiedenen Effekte erklärt. Die Wichtung einzelner Publikationen ergibt sich aus diesen beiden Punkten. Sind Studien mit stark differierenden Teilnehmerzahlen eingeschlossen, sind die Unterschiede zwischen den einzelnen Wichtungen bei diesem Modell geringer als beim Modell mit festem Effekt (da Costa und Juni 2014).

Ein wichtiger Parameter zur Beurteilung des Ergebnisses und der Qualität einer Metaanalyse ist die Heterogenität. Sie beschreibt, zu welchem Teil die Unterschiede zwischen einzelnen Studien dem Zufall oder tatsächlich existierenden Unterschieden zuzuschreiben sind. Ein häufig verwendetes Maß ist I^2 , welches den prozentualen Anteil an der gesamten Variabilität angibt, der durch die Heterogenität der Studien entsteht und nicht durch Zufall (Higgins und Thompson 2002).

Das Ergebnis einer Metaanalyse wird häufig als *forest plot* dargestellt. Darin sind das Gesamtergebnis und die einzelnen Studienergebnisse mit 95 %-Konfidenzintervall abgebildet. Die Symbolgröße jeder Studie korreliert mit ihrer Wichtung im Gesamtergebnis (Liberati et al. 2009).

Bei Metaanalysen sollte überprüft werden, ob ein *publication bias* vorliegt. Dies ist der Fall, wenn vorrangig Studien mit positivem, gewünschtem Ergebnis veröffentlicht wurden und keine Studien mit negativem Resultat vorliegen, was zu einer Verzerrung in Richtung des positiven Ergebnisses führt. Zur Überprüfung auf ein *publication bias* wird die Teilnehmerzahl jeder Studie gegen ihr Ergebnis in einem *funnel plot* aufgetragen. Liegt keine Verzerrung vor, verteilen sich die kleineren Studien symmetrisch und aufgrund höherer zufälliger Abweichungen in weiteren Abständen um das Gesamtergebnis als die größeren Untersuchungen. Alle Studien zusammen ergeben dann die Form eines umgekehrten Trichters (englisch *funnel* = Trichter; da Costa und Juni 2014).

2 Ziele der Arbeit

Die Erkrankungen Myokarditis, DCM und DCMi treten häufig bei relativ jungen Patienten auf und können mit einer schlechten Prognose assoziiert sein. Eine intramyokardiale Entzündung spielt eine wichtige Rolle in der Pathogenese dieser Erkrankungen und stellt einen potentiellen Angriffspunkt für ätiologisch ausgerichtete Therapieverfahren dar. Die Diagnose einer solchen Entzündung beruht auf wissenschaftlich umstrittenen histologischen und nicht einheitlich standardisierten immunhistologischen Untersuchungen von EMBs.

Ziel der vorliegenden Metaanalyse war es daher, alle aktuellen Publikationen zusammenzutragen, in denen EMBs von Patienten mit den klinischen Verdachtsdiagnosen Myokarditis oder DCM immunhistologisch auf das Vorhandensein einer intramyokardialen Entzündung (DCMi) untersucht wurden. Da sich die in den einzelnen Studien berichteten Nachweisraten einer intramyokardialen Entzündung unterscheiden, sollte ein mittlerer Wert aus allen Arbeiten bestimmt werden; anhand dieses Wertes könnten mit größerer Sicherheit Aussagen dazu abgeleitet werden,

- wie hoch die Prävalenz einer intramyokardialen Entzündung bei klinischem Verdacht auf Myokarditis oder DCM ist und welche Unterschiede diesbezüglich zwischen beiden Verdachtsdiagnosen bestehen,
- welche pathogenetische Bedeutung einer intramyokardialen Entzündung ausgehend von der Häufigkeit ihres Vorkommens zuzuschreiben ist und
- welcher Anteil der Patienten aufgrund des Vorhandenseins einer intramyokardialen Entzündung von kausalen Therapieverfahren profitieren könnte.

Im nächsten Schritt sollten mögliche Einflussfaktoren auf das ermittelte Ergebnis untersucht werden. Ein wichtiges Ziel dieser Arbeit war insbesondere die Kategorisierung und der Vergleich der verschiedenen immunhistologischen Diagnosekriterien, um damit möglicherweise die Grundlage für eine Standardisierung der immunhistologischen Entzündungsdiagnostik zu schaffen. Außerdem sollten die Resultate einzelner Forschungsgruppen gegenübergestellt und die Ergebnisse früherer mit denen aktueller Untersuchungen verglichen werden, um mögliche systematische Unterschiede in der Methodik zwischen den Institutionen bzw. im Zeitverlauf zu erfassen.

Ein weiteres wichtiges Ziel dieser Metaanalyse war es, anhand einer großen Kohorte über verschiedene Studien und Institutionen hinweg die histologische mit der immunhistologischen Diagnostik zu vergleichen.

Die Entnahme von EMBs ist ein invasives Verfahren, das potentiell mit Komplikationen verbunden ist. In dieser Metaanalyse sollte deshalb die CMR-Bildgebung als mögliche nichtinvasive Alternative im Vergleich zur immunhistologischen Entzündungsdiagnostik beurteilt werden.

3 Material und Methoden

Die vorliegende Metaanalyse wurde unter Beachtung der Empfehlungen des *PRISMA Statement (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses)*, einer Weiterentwicklung des *QUOROM Statement (Quality of Reporting of Meta-Analysis)*, durchgeführt (Liberati et al. 2009, Moher et al. 1999).

Die grundlegenden Schritte bei der Erstellung einer Metaanalyse sind das Erarbeiten eines Studienprotokolls, Literatursuche und -selektion, Datenerhebung und statistische Auswertung (da Costa und Juni 2014). Diese Schritte werden im folgenden Kapitel erläutert.

3.1 Literatursuche

Die Literatursuche erfolgte mithilfe des Literaturverwaltungsprogrammes *EndNote* (Version X7.4) in *PubMed*, welches auf die Datenbanken *MEDLINE (Medical Literature Analysis and Retrieval System Online)*, *OLDMEDLINE* sowie *PubMedCentral* zugreift (U.S. National Library of Medicine 2015, U.S. National Library of Medicine 2014). *MEDLINE* gilt als eine der umfassendsten Datenbanken im biomedizinischen Bereich weltweit (Liberati et al. 2009). Zusätzlich wurden die Literaturverzeichnisse der in die Metaanalyse eingeschlossenen Publikationen auf weitere relevante Veröffentlichungen überprüft sowie PD Dr. med. Michel Noutsias, FESC, FHFA, als ausgewiesener Experte auf diesem Gebiet konsultiert, um eventuell noch nicht erfasste Arbeiten einschließen zu können.

Ziel der Metaanalyse war es, den aktuellen Stand der Forschung im Zeitraum der letzten zehn Jahre (2005–2014) zu eruieren (vgl. Kap. 2). Um die Entwicklung der Forschung vergleichend beurteilen zu können und die Aussagekraft mittels einer größeren Patientenzahl zu erhöhen, wurden auch sämtliche Publikationen eingeschlossen, die vor dem genannten Zeitraum veröffentlicht wurden. Eine Untersuchung dieser Studien wurde in der Dissertation von Dr. med. Ewa Noutsias an der Charité – Universitätsmedizin Berlin vorgenommen (Noutsias 2006). Um die Vergleichbarkeit sowie eine Kombination der Daten zu ermöglichen, wurden die Such-, Ein- und Ausschlusskriterien in Anlehnung an diese Arbeit festgelegt.

Als Suchbegriffe wurden die Kombinationen aus den zu untersuchenden Krankheitsbildern (*myocarditis*, *dilated cardiomyopathy*, *inflammatory cardiomyopathy*) sowie den diagnostischen Verfahren im Allgemeinen (*diagnosis*, *biopsy*) und im Speziellen (*immunohistochemistry*, *immunohistology*) definiert. Die beiden letztgenannten Begriffe werden in der Literatur synonym verwendet, und auch zwischen *dilated cardiomyopathy* und *inflammatory cardiomyopathy* wird häufig nicht explizit unterschieden. Die resultierenden Suchbegriffkombinationen mit der jeweiligen Anzahl an gefundenen Publikationen sowie die Gesamtzahlen mit Unterteilung nach Jahr der Veröffentlichung sind in Tabelle 2 zusammengefasst.

Tabelle 2: Verwendete Suchbegriffkombinationen und Anzahl der Suchergebnisse einzeln und summiert

| Suchbegriffkombination/Summe | Anzahl Publikationen (n =) |
|-------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------|
| (diagnosis OR immunohistochemistry OR immunohistology) AND dilated cardiomyopathy | 13 385 |
| (diagnosis OR immunohistochemistry OR immunohistology) AND myocarditis | 10 991 |
| (diagnosis OR immunohistochemistry OR immunohistology) AND inflammatory cardiomyopathy | 2785 |
| (dilated cardiomyopathy OR myocarditis OR inflammatory cardio- myopathy) AND biopsy | 10 960 |
| Gesamt | 38 121 |
| Gesamt nach Abzug der Duplikate | 24 744 |
| Jahre 1909–2003 | 14 306 |
| Jahre 2004–2014 | 10 438 |

Die Suche wurde am 31.12.2014 durchgeführt. Mithilfe des Programms *EndNote* wurden automatisch Publikationen aus den Suchergebnissen eliminiert, die in mehreren Suchabfragen gefunden wurden (vgl. Tab. 2). Insgesamt ergaben sich 24 744 Veröffentlichungen aus den Jahren 1909–2015, davon 10 438 Einträge von 2004–2014.

3.2 Methodik zur Selektion der relevanten Publikationen

Die Publikationen aus den Jahren 2005–2014 wurden vom Autor mittels der Ein- und Ausschlusskriterien (s. u.) auf Relevanz für die vorliegende Arbeit überprüft. Zusätzlich wurden die Veröffentlichungen aus dem Jahr 2004 durchgesehen, um auch Arbeiten zu erfassen, die eventuell erst später elektronisch registriert wurden, als die Abfrage im Rahmen der Dissertation von Dr. med. Ewa Noutsias (Noutsias 2006) erfolgte.

Folgende Einschlusskriterien wurden definiert (vgl. Noutsias 2006):

- mindestens elf Patienten
- Patienten mit klinischer Verdachtsdiagnose Myokarditis und/oder DCM bzw. DCMi
- immunhistologische Untersuchung von EMBs auf das Vorliegen einer intramyokardialen Entzündung
- exakt definierter Grenzwert für die Diagnosestellung einer intramyokardialen Entzündung

Ausschlusskriterien waren:

- nach histologischen, immunhistologischen, virologischen oder anderen als klinischen Kriterien vorausgewählte Patienten
- Art der Publikation: Fallbericht (*case report*), Übersichtsarbeit (*review*), Metaanalyse, Kommentar, Brief an den Herausgeber (*letter to the editor*)
- andere Sprache als Englisch oder Deutsch

Beim Überprüfen der gefundenen Publikationen auf Relevanz wurden zunächst der Titel und die Zusammenfassung (*abstract*) gelesen, und dann – falls noch keine sichere Zuordnung möglich war – der Volltext analysiert.

Trafen die Einschlusskriterien bei einer der Veröffentlichungen nicht zu oder wurden Ausschlusskriterien erfüllt, wurde der Grund für den Ausschluss der Publikation für statistische Zwecke vermerkt (vgl. Kap. 4.1.1). Um bei Einträgen, bei denen mehrere Gründe zutrafen – z. B. eine Studie mit nur fünf Patienten ohne immunhistologische Untersuchung –, den Ausschlussgrund einheitlich zu dokumentieren, wurden die verschiedenen Kriterien für jede Studie in derselben Reihenfolge überprüft und das jeweils erste zutreffende als das für diese Studie geltende dokumentiert. Folgende Reihenfolge wurde dafür genutzt:

- Fallbericht
- Übersichtsarbeit
- Brief an den Herausgeber

- andere klinische Verdachtsdiagnose als Myokarditis und/oder DCM bzw. DCMi oder keine immunhistologische Untersuchung von EMBs auf das Vorliegen einer intramyokardialen Entzündung
- weniger als elf Patienten
- vorausgewählte Patienten
- kein exakt definierter Grenzwert für die Diagnosestellung einer intramyokardialen Entzündung
- andere Sprache als Englisch oder Deutsch
- anderer Grund

Ausgeschlossene Metaanalysen wurden dabei unter „Übersichtsarbeit“ eingruppiert, Kommentare unter „Brief an den Herausgeber“. Folgende Suchergebnisse ließen sich in keine Kategorie einordnen und wurden unter „anderer Grund“ klassifiziert: Leitlinien, Handlungsempfehlungen, Vorträge, Stellungnahmen von Fachgesellschaften, Berichte von Kongressen, historische Artikel und Patientenratgeber.

Gemäß den Einschlusskriterien mussten die Patienten in einzuschließenden Studien entweder die klinische Diagnose Myokarditis und/oder DCM bzw. DCMi haben. Für letztgenannte Krankheitsgruppe existieren in der Literatur zahlreiche Synonyme; die Verwendung folgender Begriffe führte zum Einschluss der Studie in die Metaanalyse und Klassifizierung des Patientenkollektivs als DCM:

- *nonischemic cardiomyopathy* = nicht ischämische Kardiomyopathie
- *chronic myocarditis* = chronische Myokarditis
- *inflammatory cardiomyopathy* = inflammatorische Kardiomyopathie
- *post-myocarditic cardiomyopathy* = Kardiomyopathie nach Myokarditis bzw. postmyokarditische Kardiomyopathie
- *congestive heart failure* = Herzinsuffizienz (mit Stauung)

Bei Metaanalysen sollte die Qualität der eingeschlossenen Studien überprüft werden (da Costa und Juni 2014) und bei mangelhafter Qualität ggf. ein Ausschluss der betreffenden Publikation erfolgen (Liberati et al. 2009). Dazu kann z. B. der Summenscore nach Jadad zur Einschätzung des Vorhandenseins bzw. der Qualität von Randomisierung, Verblin-

dung und Beschreibung von aus der Studie ausgeschlossenen Patienten verwendet werden (Jadad et al. 1996). Auf die vorliegende Arbeit, in der vorrangig Detektionsraten eines diagnostischen Verfahrens untersucht wurden und nicht der Vergleich zweier unterschiedlicher Therapien, ließ sich dieser Score nicht anwenden; nach bestem Wissen des Autors existiert auch kein etabliertes Verfahren zur Qualitätsbeurteilung von Metaanalysen der vorliegenden Art. Abgesehen davon sollten solche Instrumente ohnehin mit Bedacht eingesetzt werden, da sie das Ergebnis einer Metaanalyse maßgeblich beeinflussen können (Juni et al. 1999).

Ausführungen zur Qualität der in diese Metaanalyse eingeschlossenen Studien finden sich in Kapitel 5.1.2.1.

3.3 Datenerhebung aus den selektierten Publikationen

Die Volltextversionen der als relevant klassifizierten Studien wurden mithilfe von *End-Note* in die Literaturdatenbank eingebunden; die nicht frei verfügbaren Volltexte konnten über die Thüringer Universitäts- und Landesbibliothek (ThULB) oder im direkten Kontakt zu den Autoren der betreffenden Studien bezogen werden.

Aus allen eingeschlossenen Publikationen wurden, sofern vorhanden, u. a. folgende Daten erhoben:

- demographische und klinische Charakteristika der Patientenpopulationen
- immunhistologische Kriterien und Grenzwerte für die Diagnosestellung einer intramyokardialen Entzündung mit den entsprechenden Nachweisraten
- Ergebnisse der Histologie, falls durchgeführt
- Kriterien und Ergebnisse der CMR, falls durchgeführt

Die Daten wurden im Programm *Microsoft Excel* erfasst und anschließend in eine Tabelle im Programm *Microsoft Word* übertragen.

3.4 Statistische Analyse

Die Metaanalysen der immunhistologischen und histologischen Ergebnisse sowie der Vergleich der beiden Methoden und die Subgruppenanalysen wurden mit dem Programm *SAS*, Version 9.4 durchgeführt. Genutzt wurde die Funktion *PROC GLIMMIX*

(*GLIMMIX procedure*, *GLIMMIX* = *generalized linear mixed models*), welche die Mittelwerte nach einem gemischten Modell aus den üblichen Modellen mit festem bzw. zufälligen Effekten (vgl. Kap. 1.4) berechnet. Für die Post-hoc-Analyse zum Vergleich der einzelnen Gruppen innerhalb einer Subgruppenanalyse wurde der Tukey-Kramer-Test – nach vorheriger Überprüfung auf Varianzhomogenität mittels Levene-Test – verwendet. Die Auswertung der CMR-Ergebnisse und der Vergleich mit der Immunhistologie wurden mit dem Programm *Stata*, Version 11 durchgeführt. Die Berechnung erfolgte mit einem bivariaten generalisierten gemischten Modell (Chu und Cole 2006).

Die Grafiken (*forest plots*, *funnel plot*) wurden mit dem Programm *R*, Version 3.2.0 (R Core Team 2015) erstellt. Dafür wurde das Paket *meta* genutzt (Schwarzer 2015). Mit diesem Paket wurde auch auf Heterogenität zwischen den einzelnen Studien sowie *publication bias* hinsichtlich des immunhistologischen Ergebnisses untersucht.

Die Angaben zum mittleren Alter und zur Geschlechtsverteilung aller eingeschlossenen Patienten wurde nur aus den Studien berechnet, in denen die entsprechenden Daten verfügbar waren.

Das Signifikanzniveau wurde für alle Tests auf $p < 0,05$ festgelegt.

Die statistische Auswertung erfolgte in Kooperation mit Prof. Dr. med. Peter Schlattmann vom Institut für Medizinische Statistik, Informatik und Dokumentation (IMSID) Jena.

4 Ergebnisse

Im folgenden Kapitel werden die Ergebnisse der vorliegenden Metaanalyse besprochen. Zunächst wird der Weg von den ursprünglichen Suchergebnissen zu den in die Metaanalyse eingeschlossenen Publikationen illustriert, anschließend findet sich eine Darstellung der Charakteristika dieser Studien. Es folgen die Ergebnisse der immunhistologischen Entzündungsdiagnostik allein, eine Betrachtung verschiedener Untergruppen und der Vergleich mit den Ergebnissen der Histologie bzw. der CMR.

Abbildung 6 fasst die Gliederung des Ergebnisteils mit Angabe der entsprechenden Kapitel graphisch zusammen.

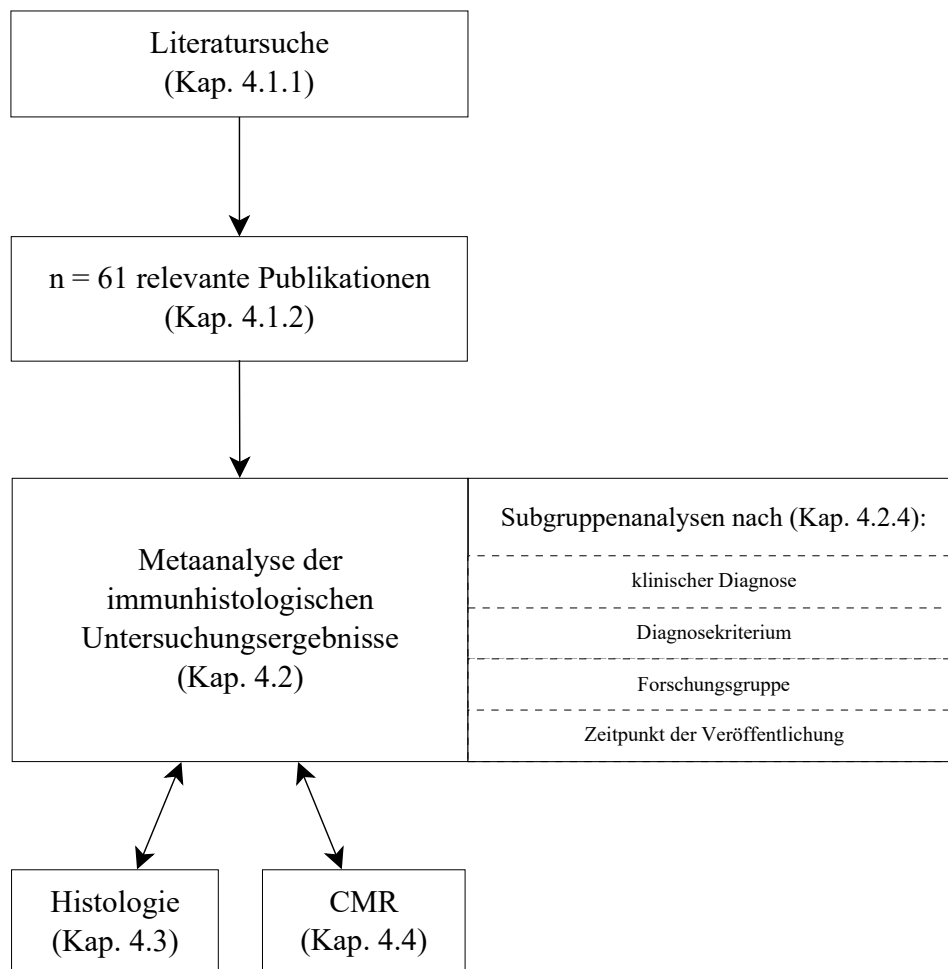


Abb. 6: Übersicht über die Gliederung des Ergebnisteils
CMR = *cardiac magnetic resonance*.

4.1 Selektion der relevanten Publikationen und deren Charakteristika

4.1.1 Selektion der relevanten Publikationen

Mit den festgelegten Suchbegriffkombinationen (vgl. Kap. 3.1) wurden 10 438 Publikationen aus den Jahren 2004–2014 gefunden und vom Autor mittels der Ein- und Ausschlusskriterien (vgl. Kap. 3.2) auf Relevanz für diese Metaanalyse überprüft.

Es wurden 10 400 Veröffentlichungen systematisch ausgeschlossen und der jeweils erste zutreffende Ausschlussgrund gemäß der in Kapitel 3.2 genannten Reihenfolge dokumentiert. Eine Studie (Lurz et al. 2014) wurde nicht in die Auswertung einbezogen, weil eine zahlenmäßig identische Patientenpopulation untersucht wurde wie in einer früheren Veröffentlichung desselben Autors (Lurz et al. 2012), welche bereits in die Metaanalyse eingeschlossen worden war (vgl. Kap. 5.1.1). In einer anderen Publikation (Bultmann et al. 2005) wurden Patientinnen mit PPCM als Sonderform der DCM untersucht. Diese Studie wurde in die Metaanalyse eingeschlossen und in der Subgruppenanalyse der Gruppe mit den Diagnosen Myokarditis und DCM zugeordnet.

Somit verblieben 38 relevante Publikationen aus den Jahren 2004–2014. Zusätzlich wurden 23 Studien in die Auswertung aufgenommen, die bis einschließlich 2003 veröffentlicht worden waren; eine Untersuchung dieser Studien hatte Dr. med. Ewa Noutsias an der Charité – Universitätsmedizin Berlin in ihrer Dissertation durchgeführt (Noutsias 2006).

Beim Durchsehen der Literaturverzeichnisse aller eingeschlossenen Studien wurden keine weiteren relevanten Einträge gefunden. PD Dr. med. Michel Noutsias, der die Literatur zu den Themen Myokarditis, DCM und DCMi seit über 15 Jahren aufmerksam verfolgt, waren über die gefundenen Publikationen hinaus keine weiteren Veröffentlichungen bekannt, die in diese Metaanalyse hätten eingeschlossen werden können.

Insgesamt eigneten sich schließlich 61 Studien für die metaanalytische Auswertung.

Abbildung 7 fasst die Selektion der relevanten Studien aus den ursprünglichen Suchergebnissen zusammen.

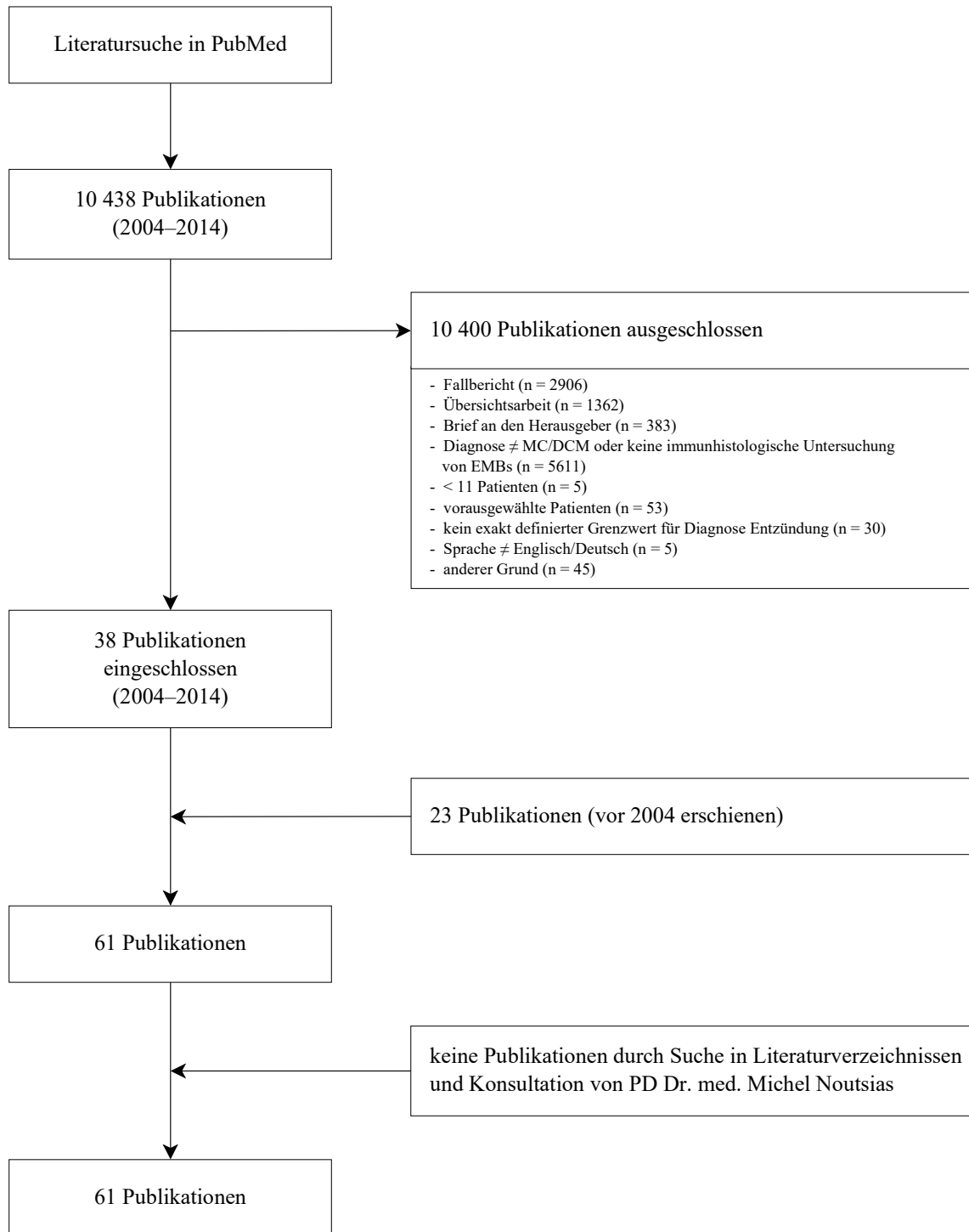


Abb. 7: Selektion der relevanten Studien aus den ursprünglichen Suchergebnissen
MC = Myokarditis, DCM = dilatative Kardiomyopathie, EMBs = Endomyokardbioptate.

4.1.2 Beschreibung der eingeschlossenen Publikationen

4.1.2.1 Demographische und klinische Charakteristika der eingeschlossenen Patienten

In die vorliegende Metaanalyse wurden 61 Studien aus den Jahren 1989–2014 eingeschlossen. Es wurden die Daten von insgesamt 10 491 Patienten mit einem Durchschnittsalter von 47,1 Jahren ausgewertet. Der Anteil weiblicher Patienten betrug 33,79 % (Männer: 66,21 %).

Tabelle 3 zeigt allgemeine Daten zu jeder Studie, wichtige demographische Parameter sowie die klinisch gestellte Verdachtsdiagnose, die zum Einschluss der Patienten führte. Die Studien sind chronologisch sortiert und von 1–61 durchnummeriert. Diese Nummerierung wird in den folgenden Kapiteln beibehalten und in den Ergebnistabellen jeweils mit „#“ gekennzeichnet.

Studie 60 (Krejci et al. 2016) wurde im Jahr 2014 vorab elektronisch publiziert und erschien 2016 in der Zeitschrift *Heart Vessels*. In Tabelle 3 ist das Jahr der elektronischen Veröffentlichung angegeben, im Literaturverzeichnis die bibliographischen Angaben für die im Jahr 2016 erschienene Version.

Tabelle 3: Eingeschlossene Studien mit demographischen Charakteristika und klinischer Verdachtsdiagnose der Patienten (Fortsetzung auf nächsten beiden Seiten)

| # | Erstautor | Jahr | Zeitschrift | Pat. (n =) | ♀ (%) | ♂ (%) | Alter ± SD | Diagnose |
|----|-------------|------|---------------------|------------|-------|-------|--------------|-------------|
| 01 | Kolbeck | 1989 | Am J Clin Pathol | 96 | k. A. | k. A. | k. A. | DCM |
| 02 | Mues | 1990 | Eur Heart J | 53 | 28,3 | 71,7 | 41 ± 5 | Myokarditis |
| 03 | Kuhl | 1994 | Eur Heart J | 130 | 27,7 | 72,3 | k. A. | DCM |
| 04 | Kuhl | 1994 | J Cardiac Failure | 120 | k. A. | k. A. | k. A. | DCM |
| 05 | Kuhl | 1995 | Eur Heart J | 176 | k. A. | k. A. | k. A. | DCM |
| 06 | Kuhl | 1996 | Heart | 170 | 31,8 | 68,2 | 50,1 ± 14,3 | DCM |
| 07 | Badorff | 1997 | J Am Coll Cardiol | 134 | 39,6 | 60,4 | 48,3 ± 12,7 | DCM |
| 08 | Kuhl | 1997 | Internist | 299 | k. A. | k. A. | k. A. | DCM |
| 09 | Lauer | 1997 | J Am Coll Cardiol | 80 | 35 | 65 | 49 ± 14 | Myokarditis |
| 10 | Klein | 1998 | Z Kardiol | 71 | 33,8 | 66,2 | 55 ± 11 | DCM |
| 11 | Kuhl | 1998 | J Am Coll Cardiol | 65 | 35,4 | 64,6 | 48,5 ± 12,5 | DCM |
| 12 | Pauschinger | 1998 | Z Kardiol | 75 | 24 | 76 | 50 ± 11 | DCM |
| 13 | Wojnicz | 1998 | Eur Heart J | 83 | 24,1 | 75,9 | 40 ± 10 | Myokarditis |
| 14 | Noutsias | 1999 | Circulation | 152 | 31,6 | 68,4 | 47,2 ± 17,4 | DCM |
| 15 | Angelini | 2000 | Heart | 12 | 33,3 | 66,7 | 24 | Myokarditis |
| 16 | Wojnicz | 2001 | Circulation | 202 | k. A. | k. A. | k. A. | DCM |
| 17 | Mahon | 2002 | J Am Coll Cardiol | 46 | k. A. | k. A. | k. A. | DCM |
| 18 | Noutsias | 2002 | Med Sci Monit | 140 | 30 | 70 | 48,4 ± 16,9 | DCM |
| 19 | Noutsias | 2002 | Med Sci Monit | 164 | 36,0 | 64,0 | 48,3 ± 15,5 | DCM |
| 20 | Vallbracht | 2002 | J Am Coll Cardiol | 65 | 58,5 | 41,5 | 45 ± 13 | Myokarditis |
| 21 | Klein | 2003 | Cardiology | 80 | k. A. | k. A. | 52 ± 8 | Myokarditis |
| 22 | Noutsias | 2003 | Eur J Heart Fail | 89 | 37,1 | 62,9 | 47 ± 16 | DCM |
| 23 | Noutsias | 2003 | Int J Cardiol | 45 | 37,8 | 62,2 | 48 | DCM |
| 24 | Vallbracht | 2004 | Circulation | 124 | 55,6 | 44,4 | 43 ± 13 | DCM |
| 25 | Klein | 2004 | Z Kardiol | 80 | 35 | 65 | 52 ± 14 | Myokarditis |
| 26 | Bultmann | 2005 | Am J Obstet Gynecol | 26 | 100 | 0 | 30,69 ± 4,55 | PPCM |
| 27 | Vallbracht | 2005 | Circulation | 71 | 47,9 | 52,1 | 43 ± 13 | DCM |

Tabelle 3: Fortsetzung

| # | Erstautor | Jahr | Zeitschrift | Pat. (n =) | ♀ (%) | ♂ (%) | Alter ± SD | Diagnose |
|----|---------------------|------|-------------------------|------------|-------|-------|---------------|--------------------------|
| 28 | Zimmermann | 2005 | Int J Cardiol | 82 | 29,3 | 70,7 | 54 | DCM |
| 29 | Mahrholdt | 2006 | Circulation | 128 | k. A. | k. A. | k. A. | Myokarditis |
| 30 | Prochorec-Sobieszek | 2006 | Kardiolog Pol | 84 | 17,9 | 82,1 | 35 ± 10,5 | DCM |
| 31 | Zimmermann | 2006 | Eur J Heart Fail | 40 | 17,5 | 82,5 | 52 | DCM |
| 32 | Vallbracht-Israng | 2007 | Cardiovasc Ultrasound | 38 | 50 | 50 | 44,6 ± 14 | DCM |
| 33 | Zimmermann | 2007 | Eur J Heart Fail | 71 | 28,2 | 71,8 | 53,37 | DCM |
| 34 | Gutberlet | 2008 | Radiology | 83 | 33,7 | 66,3 | 44,8 ± 17,7 | DCM |
| 35 | Kindermann | 2008 | Circulation | 181 | 32,6 | 67,4 | 42,4 ± 15,3 | Myokarditis |
| 36 | Yilmaz | 2008 | Heart | 85 | 67,1 | 32,9 | 58,4 | Myokarditis |
| 37 | Angelow | 2009 | Cardiology | 592 | k. A. | k. A. | k. A. | Myokarditis und/oder DCM |
| 38 | Baccouche | 2009 | Eur Heart J | 82 | 39,0 | 61,0 | 44* | Myokarditis |
| 39 | Tsukada | 2009 | Hum Pathol | 64 | 12,5 | 87,5 | 49,6 ± 12,7 | DCM |
| 40 | Zimmermann | 2009 | Basic Res Cardiol | 66 | 28,8 | 71,2 | 49* | DCM |
| 41 | Palecek | 2010 | Med Microbiol Immunol | 39 | 35,9 | 64,1 | 49 ± 11 | DCM |
| 42 | Yilmaz | 2010 | Circulation | 755 | 35,5 | 64,5 | 53,7 ± 17,3 | Myokarditis und/oder DCM |
| 43 | Mahfoud | 2011 | Eur Heart J | 124 | 33,9 | 66,1 | 40 ± 15 | Myokarditis |
| 44 | Rottgen | 2011 | Eur Radiol | 131 | 35,1 | 64,9 | 44,9 ± 13,2 | Myokarditis |
| 45 | Ukena | 2011 | Eur J Heart Fail | 186 | 29,6 | 70,4 | 43,3 ± 13,4 | Myokarditis |
| 46 | Voigt | 2011 | Eur Radiol | 23 | 13,0 | 87,0 | 47,6 | DCM |
| 47 | Dennert | 2012 | Clin Vaccine Immunol | 125 | 36 | 64 | 53 ± 2 | DCM |
| 48 | Kubanek | 2012 | Eur J Heart Fail | 41 | 29,3 | 70,7 | 42 ± 11 | DCM |
| 49 | Lurz | 2012 | JACC Cardiovasc Imaging | 132 | 21,2 | 78,8 | 47 ± 16 | Myokarditis |
| 50 | Mahfoud | 2012 | J Hypertens | 175 | 30,9 | 69,1 | 43,3 ± 13,8 | Myokarditis |
| 51 | Ameling | 2013 | Eur Heart J | 40 | 30 | 70 | 50,2 | DCM |
| 52 | Chimenti | 2013 | Circulation | 3549 | 34,1 | 65,9 | 45,86 | Myokarditis und/oder DCM |
| 53 | Kasner | 2013 | Int J Cardiol | 34 | 17,6 | 82,4 | 41,06 ± 14,32 | Myokarditis |
| 54 | Kubanek | 2013 | J Am Coll Cardiol | 44 | 29,5 | 70,5 | 43 ± 11 | DCM |

Tabelle 3: Fortsetzung

| # | Erstautor | Jahr | Zeitschrift | Pat. (n =) | ♀ (%) | ♂ (%) | Alter ± SD | Diagnose |
|----|-----------|-------------------|-------------------------|------------|-------|-------|-------------|-------------|
| 55 | Seizer | 2013 | Int J Cardiol | 102 | 39,2 | 60,8 | 49,8 ± 19,1 | DCM |
| 56 | Sramko | 2013 | Am J Cardiol | 42 | 28,6 | 71,4 | 43,9 | DCM |
| 57 | Bobbert | 2014 | J Cardiol | 30 | 16,7 | 83,3 | 48,2 ± 13 | DCM |
| 58 | Borst | 2014 | Int J Cardiol | 174 | 23,6 | 76,4 | 54,4 ± 14,6 | DCM |
| 59 | Francone | 2014 | JACC Cardiovasc Imaging | 118 | k. A. | k. A. | k. A. | Myokarditis |
| 60 | Krejci | 2014 [‡] | Heart Vessels | 113 | k. A. | k. A. | k. A. | DCM |
| 61 | Ukena | 2014 | Clin Res Cardiol | 70 | 22,9 | 77,1 | 44,2 ± 15,1 | Myokarditis |
| Σ | – | – | – | 10 491 | 33,8 | 66,2 | 47,1 | – |

Legende: # = laufende Nummerierung der Studien, Pat. (n =) = Anzahl Patienten, ♀ (%) = Anteil Frauen in %, ♂ (%) = Anteil Männer in %, Alter ± SD = Durchschnittsalter in Jahren ± Standardabweichung (falls angegeben), k. A. = keine Angabe, DCM = dilatative Kardiomyopathie, PPCM = peripartale Kardiomyopathie, Σ = Summe, * = Medianwert statt Mittelwert, ‡ = vgl. Kap. 4.1.2.1.

4.1.2.2 Diagnostische Methoden: Immunhistologie, Histologie, CMR

In allen eingeschlossenen Studien erfolgte eine immunhistologische Untersuchung der gewonnenen EMBs. Dabei wurde die Dichte der immunkompetenten Infiltrate und/oder die Expressionsintensität von CAMs quantifiziert. Die detaillierten Ergebnisse sind in Kapitel 4.2 aufgeführt.

Eine zusätzliche histologische Begutachtung der EMBs erfolgte in 30 der insgesamt 61 Studien bei 3274 Patienten (31,2 % aller Patienten). Sie basierte in allen Publikationen auf den Dallas-Kriterien mit einer Unterteilung in eine aktive und eine *borderline*-Myokarditis. Die Ergebnisse der Histologie und der Vergleich mit der Immunhistologie werden in Kapitel 4.3 besprochen.

In 13 Studien wurden die Ergebnisse der Immunhistologie mit denen der CMR bei 1185 Patienten (11,3 % aller Patienten) verglichen. Die Kriterien für den Nachweis einer Entzündung mittels CMR mit den entsprechenden Ergebnissen sowie der Vergleich mit der Immunhistologie werden in Kapitel 4.4 vorgestellt.

4.1.2.3 Kontrollpatienten

In 17 Studien (Studien 1, 4, 6, 7, 10, 13, 14, 17, 18, 19, 23, 25, 26, 30, 31, 39 und 47) wurden zusätzlich zu den EMBs der Patienten mit den klinischen Verdachtsdiagnosen Myokarditis oder DCM Proben von insgesamt 460 Kontrollpatienten untersucht. Diese gehörten einer der folgenden Gruppen an:

- Todesfälle nicht kardialer Ursache (Autopsie)
- Patienten mit Kardiomyopathien außer DCM (non-DCM)
- Patienten ohne eingeschränkte linksventrikuläre Ejektionsfraktion
- Patienten mit koronarer/ischämischer Herzkrankheit (Gewebsentnahme z. T. im Rahmen einer aortokoronaren Bypass-Operation)
- Patienten mit arterieller Hypertonie
- Patienten mit Erkrankungen der Herzklappen oder anderen Vitien
- Spenderherzen im Rahmen von Herztransplantationen
- Patienten mit Speicherkrankheiten
- Patienten ohne kardiale Vorerkrankungen

Bei keinem der Kontrollpatienten konnte histologisch nach den Dallas-Kriterien oder immunhistologisch nach dem in der jeweiligen Studie festgelegten Kriterium eine intramyokardiale Entzündung nachgewiesen werden. Die zum Vergleich zweier Methoden herangezogene und prinzipiell auch hier anwendbare *odds ratio* hätte eine unendlich größere Wahrscheinlichkeit des Nachweises einer Entzündung bei Patienten verglichen mit den Kontrollpatienten ergeben und wäre damit statistisch nicht sinnvoll auswertbar gewesen. Aus diesem Grund erfolgte kein statistischer Vergleich der Kontrolluntersuchungen mit den histologischen bzw. immunhistologischen Untersuchungen der EMBs der Patienten.

4.2 Immunhistologischer Nachweis einer intramyokardialen Entzündung

4.2.1 Studienergebnisse im Einzelnen

In allen eingeschlossenen Studien wurde eine immunhistologische Untersuchung auf das Vorliegen einer intramyokardialen Entzündung an EMBs von insgesamt 10 491 Patienten vorgenommen. Dabei wurden Infiltrate und/oder CAMs untersucht. Die entsprechenden Diagnosekriterien mit dem prozentualen Anteil positiv diagnostizierter Patienten sind für alle Studien in Tabelle 4 aufgeführt (für die Bedeutung wichtiger CD-Antigene und Abkürzungen der CAMs vgl. Kap. 1.2.3.2). Wurden Infiltrate und CAMs analysiert, ist der Wert durch Unterstreichung gekennzeichnet, der in der Publikation als vorrangig beschrieben wurde; einzig dieser Wert geht in die metaanalytische Auswertung der Immunhistologie ein.

Die Schnittdicke der untersuchten Präparate ist in Tabelle 4 nicht aufgeführt. Sie betrug 4 µm in den Studien 3, 15, 17, 35, 47 und 48 bzw. 5 µm in den Studien 4–14, 16, 18–25, 43 und 52. In den restlichen 33 Studien (54,1 % aller Studien) wurde keine Angabe zur Schnittdicke der Präparate gemacht.

Tabelle 4: Immunhistologische Kriterien für die Diagnosestellung einer intramyokardialen Entzündung unterteilt nach Infiltraten und CAMs mit den jeweiligen Nachweisraten (Fortsetzung auf nächsten beiden Seiten)

| # | Kriterium für Infiltrate | Infiltrate + (%) | # | Kriterium für CAMs/ untersuchte CAMs | CAMs + (%) |
|----|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------|----|-----------------------------------------|-------------|
| 01 | > 7 CD3+/CD2+ Lymphozyten/mm ² | 32,3 | 01 | – | – |
| 02 | Lymphozyten und Makrophagen (sq.) | 75,5 | 02 | – | – |
| 03 | > 6 CD3+/CD2+ Lymphozyten/mm ² (> 2/HPF, Vergrößerung 400fach) oder 1,5–2,0 CD3+/CD2+ Lymphozyten/HPF mit aktivierten Lymphozyten/Makrophagen oder erhöhter HLA-Expression | 36,9 | 03 | HLA-I/II | k. A. |
| 04 | > 7 CD3+/CD2+ Lymphozyten/mm ² | 46,7 | 04 | – | – |
| 05 | > 7 CD3+/CD2+ Lymphozyten/mm ² | <u>38,1</u> | 05 | HLA-I/II (sq.) | (54,5) |
| 06 | > 7 CD3+/CD2+ Lymphozyten/mm ² | <u>28,2</u> | 06 | HLA-I/II (sq.) | (70,0) |
| 07 | > 7 CD3+/CD2+ Lymphozyten/mm ² | 42,5 | 07 | – | – |
| 08 | > 7 CD3+/CD2+ Lymphozyten/mm ² | 43,1 | 08 | – | – |
| 09 | > 7 CD3+/CD2+ Lymphozyten/mm ² | 61,3 | 09 | – | – |
| 10 | > 7 CD3+/CD2+ Lymphozyten/mm ² | 42,3 | 10 | – | – |
| 11 | > 7 CD3+/CD2+ Lymphozyten/mm ² | 73,8 | 11 | – | – |
| 12 | > 7 CD3+/CD2+ Lymphozyten/mm ² | 34,7 | 12 | HLA-I/II | k. A. |
| 13 | – | – | 13 | HLA-ABC, HLA-DR, ICAM-1 (sq.) | 55,4 |
| 14 | > 7 CD3+/CD2+ Lymphozyten/mm ² | (63,8) | 14 | ≥ 3 CAMs* | <u>66,4</u> |
| 15 | > 8,8 CD45+/CD45R0+/CD43+/CD20+ Lymphozyten/mm ² | 91,7 | 15 | – | – |
| 16 | – | – | 16 | HLA-ABC, HLA-DR (sq.) | 41,6 |
| 17 | > 7 CD3+ Lymphozyten/mm ² | 23,9 | 17 | – | – |
| 18 | – | – | 18 | ≥ 3 CAMs* | 62,1 |
| 19 | > 7 CD3+/CD2+ Lymphozyten/mm ² | <u>48,8</u> | 19 | HLA-I, HLA-DR (sq.) | (57,3) |
| 20 | – | – | 20 | HLA-I, HLA-DR, ICAM-1 (sq.) | 81,5 |
| 21 | > 7 CD3+ Lymphozyten/mm ² | 36,3 | 21 | – | – |
| 22 | > 7 CD3+/CD2+ Lymphozyten/mm ² | (47,2) | 22 | ≥ 3 CAMs* | <u>61,8</u> |
| 23 | > 7 CD3+/CD2+ Lymphozyten/mm ² | <u>44,4</u> | 23 | ICAM-1 (sq.) | (55,6) |

Tabelle 4: Fortsetzung

| # | Kriterium für Infiltrate | Infiltrate + (%) | # | Kriterium für CAMs/ untersuchte CAMs | CAMs + (%) |
|----|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------|----|-----------------------------------------------------------------|------------|
| 24 | > 7 CD3+ Lymphozyten/mm ² und/oder erhöhte CAMs-Expression | 69,4 | 24 | HLA I, HLA DR, ICAM-1 (sq.) | k. A. |
| 25 | > 7 CD3+ Lymphozyten/mm ² | 38,8 | 25 | – | – |
| 26 | > 14 CD3+/CD68+ Leukozyten/mm ² | 73,1 | 26 | – | – |
| 27 | > 7 CD3+ Lymphozyten/mm ² | 71,8 | 27 | HLA-I, HLA-DR, ICAM-1 (sq.) | k. A. |
| 28 | ≥ 3 CD2+ Zellen/mm ² | 48,8 | 28 | HLA-I, HLA-II, CD54 (sq.) | k. A. |
| 29 | > 14 CD3+/CD68+ Leukozyten/mm ² und geschädigte Myozyten und/oder Fibrose mit erhöhter HLA-II-Expression | 68,0 | 29 | HLA-DR-α | k. A. |
| 30 | > 2 CD3+ Lymphozyten/HPF und/oder > 1,5 CD3+ Lymphozyten/HPF mit multiplen Fokussen und erhöhter HLA-I/II-Expression | <u>32,1</u> | 30 | ≥ 3 CAMs (HLA-I/II, ICAM-1, VCAM-1, jeweils sq. und qualitativ) | (45,8) |
| 31 | ≥ 3 CD2+ Zellen/mm ² | 45,0 | 31 | HLA-I, HLA-II, CD54 (sq.) | k. A. |
| 32 | > 7 CD3+ Lymphozyten/mm ² und/oder erhöhte CAMs-Expression | 78,9 | 32 | HLA-I, HLA-DR, ICAM-1 (sq.) | k. A. |
| 33 | ≥ 3 CD2+ Zellen/mm ² | 46,5 | 33 | – | – |
| 34 | > 7 CD3+ Lymphozyten/mm ² und erhöhte CAMs-Expression | 57,8 | 34 | HLA-I/II und CD54 oder ICAM-1 | k. A. |
| 35 | > 14 CD3+/CD68+ Leukozyten/mm ² und erhöhte HLA-II-Expression | 50,3 | 35 | HLA-II | k. A. |
| 36 | ≥ 14 CD3+/CD68+ Leukozyten/mm ² mit/ohne geschädigte(n) Myozyten | 55,3 | 36 | HLA-II | k. A. |
| 37 | ≥ 14 CD3+/CD68+ Leukozyten/mm ² und erhöhte HLA-II-Expression; alternativ > 7 CD3+ Lymphozyten/mm ² oder < 7 CD3+ Lymphozyten/mm ² mit erhöhter HLA-I-/ICAM-I-Expression und > 7 CD45R0+ E2 oder 710+ oder > 35 CD11b+ Zellen/mm ² | 56,6 | 37 | HLA-I/II | k. A. |
| 38 | ≥ 14 CD3+/CD68+ Leukozyten/mm ² mit/ohne geschädigte(n) Myozyten | 69,5 | 38 | – | – |
| 39 | ≥ 14 CD45+/CD68+ Leukozyten/mm ² | 46,9 | 39 | – | – |
| 40 | ≥ 3 CD2+ Zellen/mm ² | 33,3 | 40 | HLA-I/II | k. A. |
| 41 | > 7 CD3+ und >5 CD68+ Leukozyten/mm ² | 48,7 | 41 | – | – |
| 42 | ≥ 14 CD3+/CD68+ Leukozyten/mm ² mit/ohne geschädigte(n) Myozyten | 43,6 | 42 | HLA-II | k. A. |
| 43 | > 14 CD3+/CD68+ Leukozyten/mm ² und erhöhte HLA-II-Expression | 43,5 | 43 | HLA-II | k. A. |
| 44 | > 7 CD3+ Lymphozyten/mm ² und erhöhte CAMs-Expression | 62,6 | 44 | HLA-I/II und CD54 oder ICAM-1 | k. A. |

Tabelle 4: Fortsetzung

| # | Kriterium für Infiltrate | Infiltrate + (%) | # | Kriterium für CAMs/ untersuchte CAMs | CAMs + (%) |
|----|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------|----|-----------------------------------------|------------|
| 45 | > 14 CD3+/CD68+ Leukozyten/mm ² und erhöhte HLA-II-Expression | 51,1 | 45 | HLA-II | k. A. |
| 46 | ≥ 14 CD3+/CD68+ Leukozyten/mm ² und erhöhte HLA-II-Expression | 52,2 | 46 | HLA-II | k. A. |
| 47 | > 14 CD45+ Lymphozyten/mm ² | 18,4 | 47 | – | – |
| 48 | > 7 CD3+ Lymphozyten/mm ² oder > 14 CD3+/CD68+ Leukozyten/mm ² | 39,0 | 48 | HLA-II | k. A. |
| 49 | ≥ 14 CD3+/CD68+ Leukozyten/mm ² und erhöhte HLA-II-Expression | 62,9 | 49 | HLA-II | k. A. |
| 50 | ≥ 14 Leukozyten/mm ² | 50,9 | 50 | – | – |
| 51 | > 14 CD3+/CD68+ Leukozyten/mm ² und erhöhte HLA-II-Expression | 67,5 | 51 | HLA-II | k. A. |
| 52 | > 14 Leukozyten/mm ² oder > 2 CD3+ Lymphozyten/HPF (Vergrößerung 400fach) | 49,4 | 52 | – | – |
| 53 | > 7 Lymphozyten/mm ² und > 35 Makrophagen/mm ² mit/ohne Myozytolyse und Nachweis viraler Genome | 64,7 | 53 | – | – |
| 54 | > 7 CD3+ Lymphozyten/mm ² oder > 14 CD3+/CD68+ Leukozyten/mm ² | 34,1 | 54 | – | – |
| 55 | > 14 CD3+/CD68+ Leukozyten/mm ² und erhöhte HLA-II-Expression | 38,2 | 55 | HLA-II | k. A. |
| 56 | ≥ 7 CD3+ Lymphozyten/mm ² oder ≥ 14 CD3+/CD68+ Leukozyten/mm ² | 35,7 | 56 | – | – |
| 57 | ≥ 14 Leukozyten/mm ² | 50,0 | 57 | HLA-I, HLA-DR, ICAM-1 (sq.) | k. A. |
| 58 | ≥ 14 Leukozyten/mm ² (davon ≤ 4 Monozyten/mm ² und ≥ 7 CD3+ Lymphozyten/mm ²) | 73,0 | 58 | – | – |
| 59 | ≥ 14 Leukozyten/mm ² oder > 2 CD3+ Lymphozyten/HPF (Vergrößerung 400fach) | 48,3 | 59 | – | – |
| 60 | > 7 CD3+ Leukozyten/mm ² und/oder > 14 CD45+/LCA+ Leukozyten/mm ² | 38,1 | 60 | – | – |
| 61 | > 14 CD3+/CD68+ Leukozyten/mm ² mit erhöhter HLA-II-Expression mit/ohne Nekrose von Myozyten | 60,0 | 61 | HLA-II | k. A. |

Legende: Wurden Infiltrate und Zelladhäsionsmoleküle (CAMs) untersucht, ist die Nachweisrate des in der jeweiligen Studie als vorrangig beschriebenen Kriteriums in der Tabelle unterstrichen, das als nachrangig beschriebene steht in Klammern. In einigen Studien wurden CAMs analysiert, aber keine Nachweisrate angegeben.

= laufende Nummerierung der Studien, Infiltrate + (%) = Nachweisrate von Infiltraten in %, CAMs + (%) = Nachweisrate von CAMs in %, k. A. = keine Angabe, HPF = *high power field* (Haupt Gesichtsfeld), sq. = semiquantitativ, * = (HLA-I, HLA-DR, ICAM-1, VCAM-1, LFA-3, CD62E, CD62P jeweils sq.), für die Bedeutung wichtiger CD-Antigene und Abkürzungen der CAMs vgl. Kap. 1.2.3.2.

4.2.2 Metaanalyse der Nachweisraten einer immunhistologisch diagnostizierten intramyokardialen Entzündung

Die Berechnung der mittleren Nachweisrate einer immunhistologisch diagnostizierten intramyokardialen Entzündung erfolgte mit dem Programm *SAS* mit der Funktion *GLIMMIX Procedure*, die einem gemischten Modell aus den gebräuchlichen Modellen mit festem bzw. zufälligen Effekten entspricht (vgl. Kap. 3.4). Dabei ging von Studien, in denen verschiedene Nachweisraten für Infiltrate und CAMs angegeben waren, jeweils nur der Wert in die Analyse ein, der in der Arbeit als vorrangig beschrieben wurde. Bei den betreffenden Studien ist dieser Wert in Tabelle 4 durch Unterstreichung gekennzeichnet.

Die höchste Nachweisrate fand sich in Studie 15 mit 91,7 %, die niedrigste mit 18,4 % in Studie 47. Die Studienergebnisse zeigten untereinander eine signifikante Heterogenität mit einem I^2 von 86,2 % (95 %-KI: 83,0–88,8 %; Test auf Heterogenität: $p < 0,0001$). Die metaanalytisch errechnete mittlere Nachweisrate einer intramyokardialen Entzündung betrug 50,86 % (95 %-KI: 46,35–55,35 %).

Das Ergebnis dieser Metaanalyse ist in Abbildung 8 als *forest plot* dargestellt. Die darin ersichtliche, von den vorherigen Ausführungen geringfügig abweichende mittlere Nachweisrate von 50,76 % (95 %-KI: 47,74–53,77 %) ergibt sich durch die Berechnung nach dem Modell mit zufälligen Effekten mit dem Programm *R*, Paket *meta*, Funktion *meta-prop*.

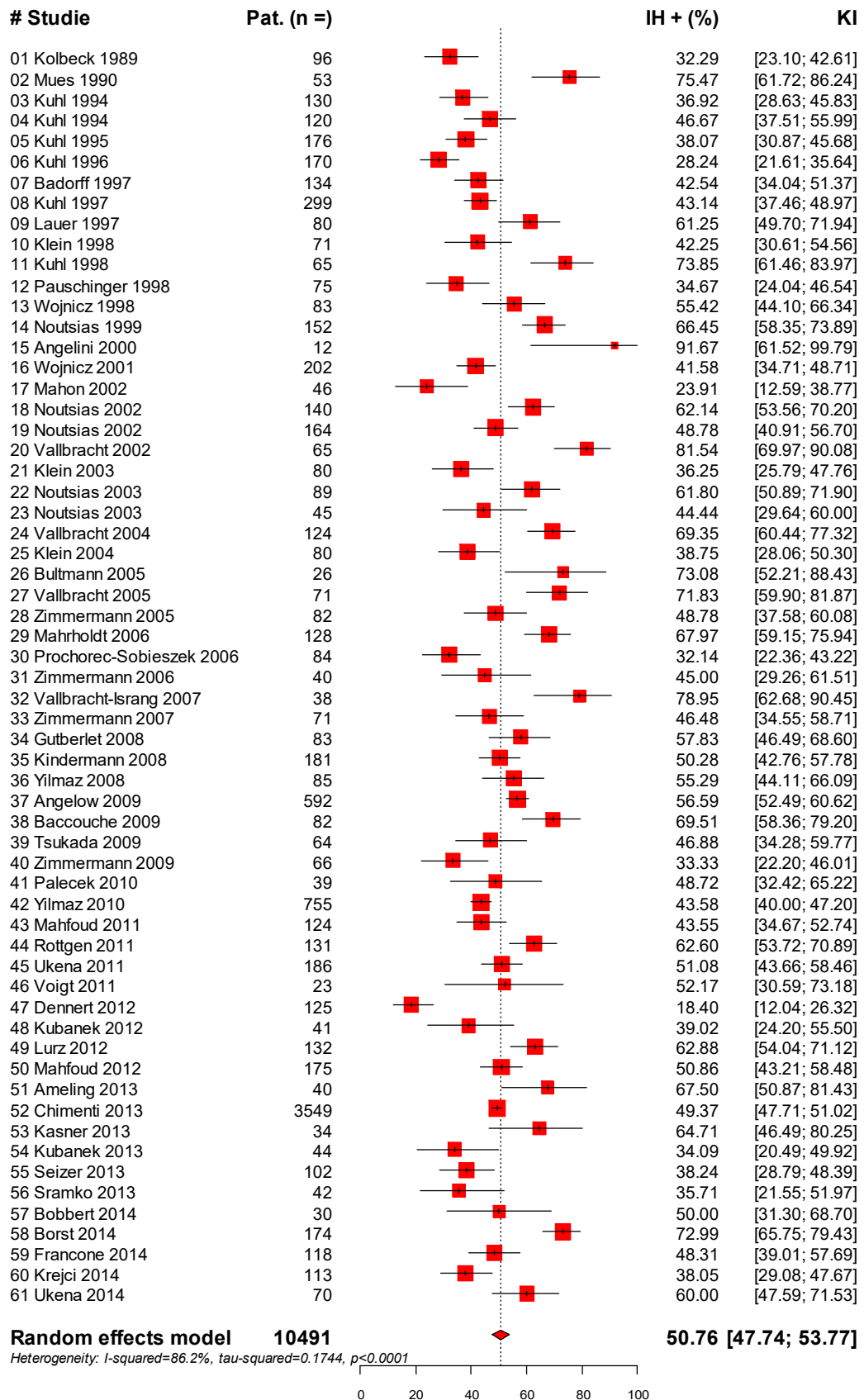


Abb. 8: forest plot zur Metaanalyse der Nachweisraten einer immunhistologisch diagnostizierten intramyokardialen Entzündung (Abbildungsbeschreibung auf nächster Seite)

Beschreibung von Abb. 8:

Die gestrichelte vertikale Linie und die rote Raute markieren das errechnete Endergebnis, die Position der roten Quadrate illustriert die Nachweisrate jeder einzelnen Studie mit 95 %-Konfidenzintervall (schwarze horizontale Linien); die Größe der roten Quadrate korreliert mit der Wichtung einer Studie im Endergebnis. Es zeigt sich ein hohes Maß an Heterogenität (*heterogeneity*) zwischen den Studienergebnissen mit einem I^2 von 86,2 %.

Studie = laufende Nummerierung der Studien mit Angabe von Erstautor und Erscheinungsjahr, Pat. (n =) = Anzahl Patienten, IH + (%) = Immunhistologie positiv in %, KI = 95 %-Konfidenzintervall, *random effects model* = Modell mit zufälligen Effekten, Angabe Gesamtpatientenzahl und Endergebnis.

4.2.3 Untersuchung der eingeschlossenen Studien auf *publication bias* hinsichtlich des immunhistologischen Ergebnisses

Der statistische Test auf *publication bias* wurde mit dem Programm *R*, Paket *meta*, Funktion *metabias* durchgeführt. Eine graphische Darstellung dieser Untersuchung findet sich in Abbildung 9 als *funnel plot*. Dort sind die Nachweisraten einer immunhistologisch diagnostizierten intramyokardialen Entzündung nach Umrechnung mittels Logit-Transformation gemäß der Formel $x = \ln(p/[1 - p])$ mit p als Nachweisrate gegen die Patientenzahl der jeweiligen Studie – im vorliegenden *funnel plot* in logarithmischer Achsenkalierung – aufgetragen.

Der Test auf Asymmetrie des *funnel plot* mittels linearer Regression fiel negativ aus ($p = 0,4264$). Es liegt also kein signifikantes *publication bias* vor.

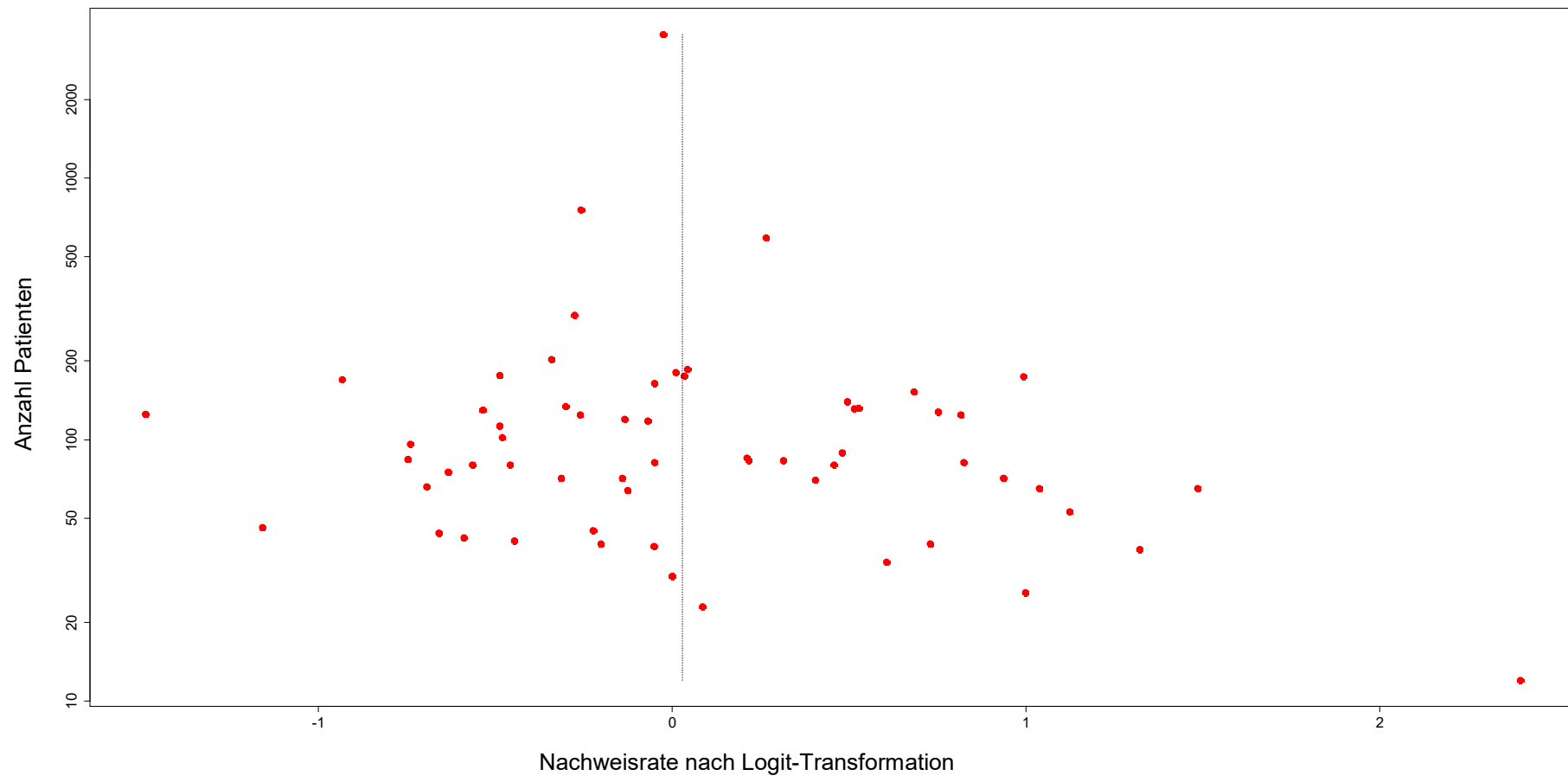


Abb. 9: *funnel plot* zur Metaanalyse der Nachweisraten einer immunhistologisch diagnostizierten intramyokardialen Entzündung

Die vertikale, gestrichelte Linie steht für den Mittelwert nach dem Modell mit zufälligen Effekten. Jeder rote Punkt symbolisiert eine Studie. Es zeigt sich eine homogene Verteilung der Studienergebnisse um den Mittelwert, insbesondere auch der Studien mit geringeren Patientenzahlen. Es liegt kein signifikantes *publication bias* vor ($p = 0,4264$).

4.2.4 Nachweisraten einer immunhistologisch diagnostizierten intramyokardialen Entzündung in verschiedenen Untergruppen

Für die im Folgenden besprochenen Untergruppierungen nach

- klinischer Diagnose,
- immunhistologischem Diagnosekriterium,
- Forschungsgruppe und
- Zeitpunkt der Veröffentlichung der Studien

wird das Ergebnis am Ende jedes Unterkapitels zusammenfassend graphisch dargestellt: Die roten Balken stehen für die metaanalytisch errechnete Nachweisrate mit 95 %-Konfidenzintervall, die gelben Balken für den prozentualen Patientenanteil dieser Gruppe am Gesamtkollektiv.

4.2.4.1 Nachweisraten nach klinischer Diagnose

In 19 Studien dieser Metaanalyse lautete die klinische Verdachtsdiagnose Myokarditis, in 38 Studien DCM und in 4 Studien Myokarditis und/oder DCM. Die letzte Gruppe stellte mit 4922 Patienten (46,9 % aller Patienten) die größte Subgruppe dar. Dieser Gruppe wurde auch Studie 26 zugeordnet, in der 26 Patientinnen (0,25 % aller Patienten) mit PPCM als Sonderform der DCM untersucht wurden. Welche Studien zu welcher Gruppe gehören, ist in Tabelle 3 ersichtlich.

Am häufigsten gelang der Entzündungsnachweis bei den Patienten mit der Verdachtsdiagnose Myokarditis: In 58,6 % (95 %-KI: 51,2–65,0 %) der Fälle war die immunhistologische Befundung positiv. Patienten mit DCM wiesen mit 47,0 % (95 %-KI: 42,3–51,7 %) eine signifikant niedrigere Nachweisrate auf ($p = 0,0053$). In der Gruppe mit beiden Diagnosen wurde eine intramyokardiale Entzündung bei 54,2 % (95 %-KI: 40,2–67,6 %) der Patienten nachgewiesen. Dieser Wert unterschied sich weder von dem der Patienten mit Myokarditis ($p = 0,5725$) noch von dem der Gruppe mit DCM ($p = 0,3440$) auf signifikantem Niveau.

Die genannten Ergebnisse sind in Abbildung 10 dargestellt.

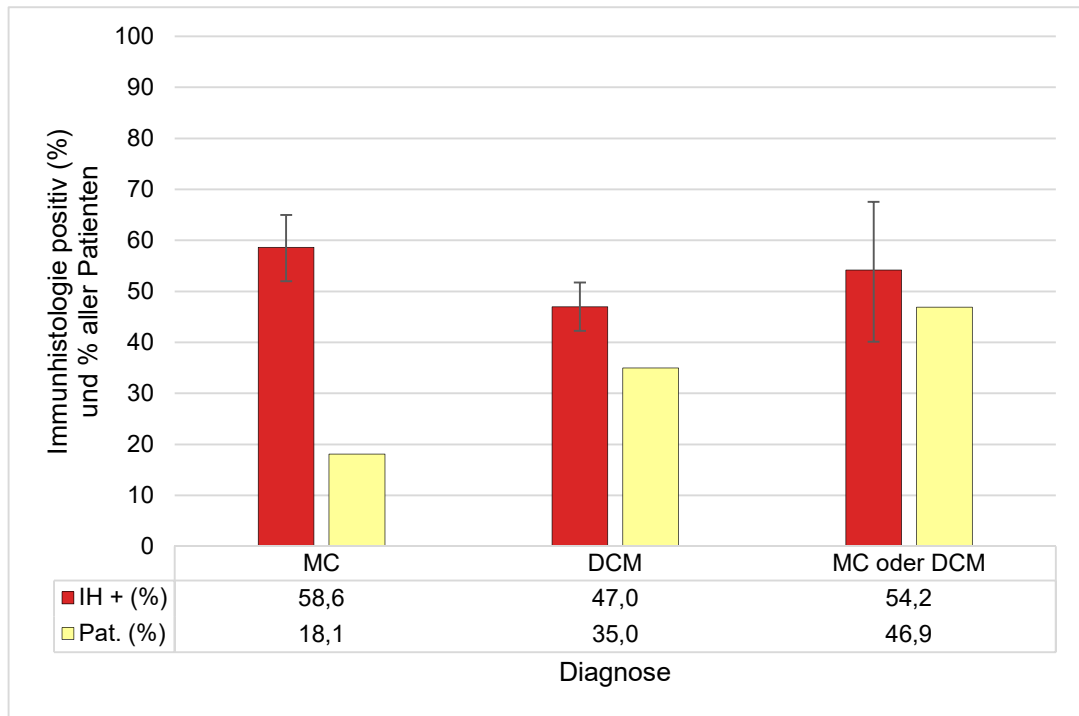


Abb. 10: Immunhistologischer Nachweis einer intramyokardialen Entzündung nach Diagnose
Die Nachweisraten sind mit 95 %-Konfidenzintervall als rote und der prozentuale Anteil der Patienten am Gesamtkollektiv als gelbe Balken dargestellt. Statistischer Vergleich der Diagnosegruppen: MC vs. DCM: $p = 0,0053$; MC vs. MC oder DCM: $p = 0,5725$; DCM vs. MC oder DCM: $p = 0,3440$. IH + (%) = Immunhistologie positiv in %, Pat. (%) = prozentualer Patientenanteil in Bezug auf alle Patienten, MC = Myokarditis, DCM = dilatative Kardiomyopathie.

4.2.4.2 Nachweisraten nach Diagnosekriterium

Für die Diagnosestellung einer intramyokardialen Entzündung wurden in den Studien dieser Metaanalyse verschiedene immunhistologische Kriterien verwendet (vgl. Tab. 4). Um die Nachweisraten der einzelnen Kriterien vergleichen zu können, wurden diese in 13 Gruppen unterteilt, und dabei sich nur geringfügig unterscheidende Kriterien einer gemeinsamen Gruppe zugeordnet, um die Anzahl an Gruppen möglichst gering zu halten und eventuell existierende Unterschiede zwischen sich deutlich unterscheidenden Kriterien erfassbar zu machen.

Tabelle 5 zeigt diese Gruppeneinteilung mit den jeweils zugeordneten Studien.

Tabelle 5: Gruppierung der immunhistologischen Diagnosekriterien

| Gr. # | Kriterium | Studie(n) |
|-------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------|
| 01 | > 7 CD3+ [oder CD2+] Lymphozyten/mm ² [und/oder > 14 CD45+/LCA+ Leukozyten/mm ²] | 1, 4–12, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 60 |
| 02 | > 7 CD3+ Lymphozyten/mm ² und [/oder] erhöhte CAMs-Expression | 24, 32, 34, 44 |
| 03 | > 7 CD3+ und > 5 CD68+ Leukozyten/mm ² | 41 |
| 04 | > 7 Lymphozyten/mm ² und > 35 Makrophagen/mm ² mit/ohne Myozytolyse und Nachweis viraler Genome | 53 |
| 05 | > 2 CD3+ Lymphozyten/HPF und/oder > 1,5 CD3+ Lymphozyten/HPF mit multiplen Fokussen und erhöhter HLA-I/II-Expression | 30 |
| 06 | ≥ 3 CD2+ Zellen/mm ² | 28, 31, 33, 40 |
| 07 | > 14 CD45+ Lymphozyten/mm ² | 47 |
| 08 | > 6 CD3+/CD2+ Lymphozyten/mm ² (> 2/HPF) oder 1,5–2,0 CD3+/CD2+ Lymphozyten/HPF mit aktivierten Lymphozyten/ Makrophagen oder erhöhter HLA-Expression | 3 |
| 09 | > 8,8 CD45+/CD45R0+/CD43+/CD20+ Lymphozyten/mm ² | 15 |
| 10 | > [≥] 14 CD3+[CD45+]/CD68+ Leukozyten/mm ² [und erhöhte HLA-II-Expression und [/oder] geschädigte Myozyten] | 26, 29, 35, 36, 38, 39, 42, 43, 45, 46, 49–51, 55, 57, 58, 61 |
| 11 | Lymphozyten und Makrophagen (semiquantitativ) | 2 |
| 12 | > 7 CD3+ Lymphozyten/mm ² [oder > 2 CD3+ Lymphozyten/HPF] oder > 14 CD3+/CD68+ Leukozyten/mm ² | 37, 48, 52, 54, 56, 59 |
| 13 | CAMs | 13, 14, 16, 18, 20, 22 |

Legende: Angaben in eckigen Klammern unterscheiden sich zwischen den einer Gruppe zugeordneten Studien. Alle Kriterien, die auf CAMs basieren, wurden Gruppe 13 zugeordnet. Für weitere Erläuterungen siehe Text. Gr. # = laufende Nummerierung der Gruppen von Diagnosekriterien, HPF = *high power field* (Hauptgesichtsfeld).

Im Folgenden wird detailliert auf die verwendeten Diagnosekriterien eingegangen. Diese lassen sich in zwei große Gruppen einteilen: Infiltrate (1) und CAMs (2).

(1) Diagnosekriterien basierend auf Infiltraten

Kriterien dieser Art wurden in den Studien verwendet, die den Gruppen 1–12 (vgl. Tab. 5) zugeordnet wurden. Sie lassen sich anhand des nachgewiesenen Zelltyps weiter unterteilen in Lymphozyten (A), Leukozyten (B) und Lymphozyten oder Leukozyten (C). Zum besseren Verständnis sei noch einmal erwähnt, dass Lymphozyten und Makrophagen jeweils eine Untergruppe der Leukozyten darstellen.

(A) Lymphozyten (Gruppen 1–9)

Die erste Arbeit dieser Art stammt von Kolbeck et al. (1989, Studie 1). Darin wurden CD3+/CD2+ Lymphozyten untersucht und als Grenzwert für eine Entzündung > 7 Lymphozyten/mm² festgelegt. Dasselbe Diagnosekriterium fand in weiteren Studien Anwendung (Studien 4–12, 19, 23), wobei teilweise nur CD3+ Lymphozyten untersucht wurden (Studien 17, 21, 25, 27). Des Weiteren konnte in einigen Publikationen die Erfüllung einer der folgenden Bedingungen anstelle des Nachweises der CD3+/CD2+ Lymphozyten zu einer positiven Befundung führen:

- Nachweis von > 14 CD45+/LCA+ Leukozyten/mm² (Studie 60)
- Nachweis von CAMs (Studien 24, 32; Studien 34, 44: obligater Nachweis von Lymphozyten und CAMs)

In anderen Studien wurde bei gleichem Grenzwert der zusätzliche Nachweis von > 5 CD68+ Leukozyten/mm² (Studie 41) oder > 35 Makrophagen/mm² mit fakultativem Nachweis einer Myozytolyse und/oder dem Nachweis viraler Genome (Studie 53) gefordert.

Auch der Grenzwert von > 7 Lymphozyten/mm² wurde modifiziert: Stattdessen kamen folgende Werte – mit nachgewiesenem Zelltyp – zur Anwendung:

- > 2 CD3+ Lymphozyten/HPF (*high power field*, Hauptgesichtsfeld), in etwa > 7 Lymphozyten/mm² entsprechend (Studie 30)
- ≥ 3 CD2+ Zellen/mm² (Studien 28, 31, 33, 40)
- > 14 CD45+ Lymphozyten/mm² (Studie 47)
- > 6 CD3+/CD2+ Lymphozyten/mm², entsprechend > 2 Lymphozyten/HPF (Studie 3)

In der letztgenannten Studie wurde auch ein noch niedrigerer Grenzwert von 1,5–2,0 CD3+/CD2+ Lymphozyten/HPF gestattet, wenn zusätzlich aktivierte Lymphozyten oder Makrophagen bzw. eine erhöhte HLA-Expression nachweisbar waren.

Ein weiteres Kriterium wurde in nur einer Studie verwendet: In Studie 15 wurden CD45+/CD45R0+/CD43+/CD20+ Lymphozyten bei einem Grenzwert von umgerechnet $> 8,8$ Lymphozyten/mm² untersucht.

(B) Leukozyten (Lymphozyten und Makrophagen; Gruppen 10 und 11)

Ein häufig angewendetes Kriterium basierte auf dem Nachweis von CD3+ Lymphozyten und CD68+ Makrophagen bei einem Grenzwert von zusammen > 14 Leukozyten/mm² (Studien 26, 39, 50, 57, 58), teilweise mit einer Mindestanzahl CD3+ Lymphozyten. In einigen Studien wurde zusätzlich der Nachweis einer erhöhten HLA-Expression (Studien 35, 43, 45, 46, 49, 51, 55), von Myozytolysen (Studien 36, 38, 42) oder von beidem (Studien 29, 61) gefordert. In Studie 2 wurden Lymphozyten und Makrophagen anhand eines semiquantitativen Scores ohne spezifischen Grenzwert untersucht.

(C) Entweder (A) oder (B) (Gruppe 12)

Die Kombination der beiden zuvor besprochenen Gruppen – CD3+/CD2+ Lymphozyten (A) bzw. CD3+/CD68+ Leukozyten (B) – fand sich in den Studien 48, 52, 54, 56 und 59. Hier wurden EMBs als positiv für eine Entzündung eingestuft, wenn > 7 Lymphozyten/mm² (entsprechend > 2 Lymphozyten/HPF) oder > 14 Leukozyten/mm² nachgewiesen werden konnten.

Eine Besonderheit stellt Studie 37 dar: Es handelt sich um die Projektbeschreibung einer an drei Zentren durchgeführten Untersuchung mit Angabe verschiedener Diagnosekriterien für jedes teilnehmende Zentrum.

(2) Diagnosekriterien basierend auf CAMs (Gruppe 13)

CAMs wurden in 35 der insgesamt 61 Studien untersucht. Eine Angabe zur Nachweishäufigkeit der CAMs fand sich in nur 11 Studien, und in nur 6 Publikationen wurde ein auf dem Nachweis von CAMs basierendes Kriterium als das vorrangige zur Diagnosestellung einer intramyokardialen Entzündung beschrieben (Studien 13, 14, 16, 18, 20, 22).

Die entsprechenden Kriterien beruhten auf dem Nachweis folgender CAMs:

- HLA-ABC, HLA-DR, ICAM-1 nach einem semiquantitativen Score (Studien 13, 20)
- HLA-ABC, HLA-DR nach einem semiquantitativen Score (Studie 16)
- mindestens drei der folgenden CAMs: HLA-ABC, HLA-DR, ICAM-1, VCAM-1, LFA-3, CD62E, CD62P, jeweils nach einem semiquantitativen Score (Studien 14, 18, 22)

In Studie 22 wurden die EMBs zusätzlich auf das Vorhandensein zytotoxischer T-Lymphozyten untersucht; sie galten beim Nachweis von $\geq 1,5$ TIA-1+ und/oder $\geq 2,0$ Perforin+ Infiltraten/HPF als positiv.

Abgesehen von diesen sechs Studien war in einigen Untersuchungen der Nachweis bestimmter CAMs Bedingung für die Erfüllung eines vorrangig auf dem Nachweis von Infiltraten basierenden Kriteriums (Studien 29, 34, 35, 37, 43–46, 49, 51, 55, 61).

In Abbildung 11 sind die metaanalytisch ermittelten Nachweisraten jeder der vorgestellten Gruppen von Diagnosekriterien dargestellt.

Die höchste bzw. niedrigste Nachweisrate entfiel auf Gruppe 9 bzw. 7 mit 91,7 % (95 %-KI: 54,6–99,0 %) bzw. 18,4 % (95 %-KI: 7,9–37,1 %) der Fälle mit positivem Entzündungsnachweis. Allerdings gehört zu beiden Gruppen jeweils nur eine Studie (Patientenanteil 0,1 bzw. 1,2 %).

Die meisten Patienten wurden mit den Gruppe 12 zugeordneten Diagnosekriterien untersucht (41,8 % aller Patienten). Die Nachweisrate einer intramyokardialen Entzündung betrug 45,1 % (95 %-KI: 35,8–54,8 %).

Die Nachweisraten der Gruppen von Diagnosekriterien unterschieden sich signifikant voneinander ($p < 0,0001$). Im Einzelnen ergab die Post-hoc-Analyse der drei Gruppen mit den meisten Patienten (Gruppen 1, 10 und 12) sowie der CAMs (Gruppe 13) folgende Zusammenhänge: In Gruppe 10 wurde eine Entzündung signifikant häufiger nachgewiesen als in Gruppe 1 ($p = 0,0027$) und grenzwertig signifikant häufiger als in Gruppe 12 ($p = 0,0586$). Mittels CAMs (Gruppe 13) gelang der Nachweis signifikant häufiger als in Gruppe 1 ($p = 0,0015$) und 12 ($p = 0,0179$). Die Gruppen 1 und 12 ($p = 0,7802$) sowie 10 und 13 ($p = 0,3328$) unterschieden sich nicht signifikant voneinander.

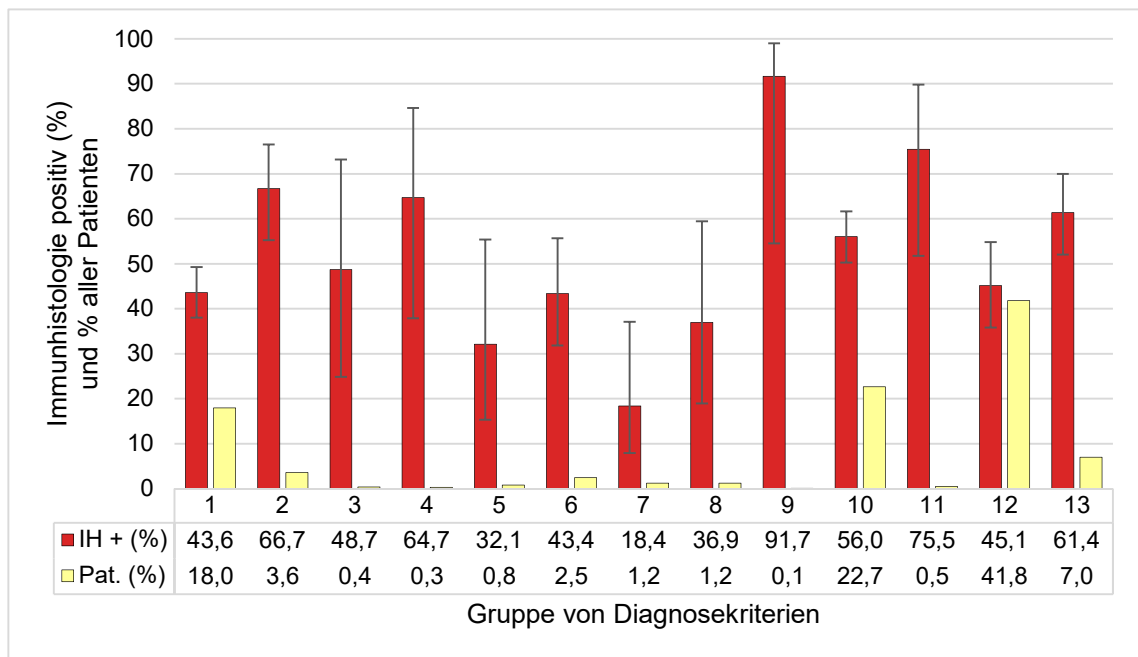


Abb. 11: Immunhistologischer Nachweis einer intramyokardialen Entzündung nach Diagnosekriterium. Die Nachweisraten sind mit 95 %-Konfidenzintervall als rote und der prozentuale Anteil der Patienten am Gesamtkollektiv als gelbe Balken dargestellt. Für die Gruppierung der Diagnosekriterien vgl. Tab. 5. Statistischer Vergleich ausgewählter Gruppen: 1 vs. 10: $p = 0,0027$; 1 vs. 12: $p = 0,7802$; 1 vs. 13: $p = 0,0015$; 10 vs. 12: $p = 0,0586$; 10 vs. 13: $p = 0,3328$; 12 vs. 13: $p = 0,0179$. IH + (%) = Immunhistologie positiv in %, Pat. (%) = prozentualer Patientenanteil in Bezug auf alle Patienten.

4.2.4.3 Nachweisraten nach Forschungsgruppe

Um die verschiedenen Institutionen, in denen EMBs immunhistologisch auf das Vorliegen einer Entzündung untersucht wurden, vergleichen zu können, wurden alle in diese Metaanalyse eingeschlossenen Studien anhand des letzt- oder erstgenannten Autors einer Forschungsgruppe zugeteilt. Die entsprechende Einteilung ist Tabelle 6 zu entnehmen.

Tabelle 6: Einteilung der Studien nach Forschungsgruppe

| F-Gr. # | Erst-/Letztautor | Studie(n) |
|----------------|-----------------------------|-------------------------------------------------------|
| 01 | Noutsias, Köhl, Schultheiss | 3–9, 11, 12, 14, 18–20, 22–24, 27, 32, 34, 44, 53, 57 |
| 02 | Kandolf | 26, 29, 35, 36, 38, 42, 43, 45, 46, 49–51, 55, 58, 61 |
| 03 | Kolbeck | 1 |
| 04 | Mues | 2 |
| 05 | Klein | 10, 21, 25 |
| 06 | Wojnicz | 13, 16 |
| 07 | Angelini | 15 |
| 08 | Mahon | 17 |
| 09 | Zimmermann | 28, 31, 33, 40 |
| 10 | Prochorec-Sobieszek | 30 |
| 11 | Tsukada | 39 |
| 12 | Palecek | 41 |
| 13 | Dennert | 47 |
| 14 | Kubanek | 48, 54, 56 |
| 15 | Chimenti | 52, 59 |
| 16 | Krejci | 60 |
| 17 | Angelow | 37 |

Legende: F-Gr. # = laufende Nummerierung der Forschungsgruppen.

Sowohl die höchste als auch niedrigste Nachweisrate entfiel auf Forschungsgruppen, denen jeweils nur eine Studie zugeteilt war (Nachweisraten 91,7 % [95 %-KI: 53,6–99,0 %] bzw. 18,4 % [95 %-KI: 7,4–39,0 %] in den Gruppen 7 bzw. 13).

Die meisten Patienten wurden von Forschungsgruppe 15 in zwei Studien untersucht (35,0 % aller Patienten). Es ergab sich eine Nachweisrate von 48,9 % (95 %-KI: 32,5–65,5 %). Die beiden nächstgrößeren Gruppen waren die Gruppen 1 und 2 mit einem Anteil von 23,0 bzw. 21,8 % aller Patienten, die in 22 bzw. 15 Studien untersucht wurden; die Nachweisraten betrugen 55,4 % (95 %-KI: 49,9–60,8 %) bzw. 57,0 % (95 %-KI: 50,3–63,4 %). Zwischen diesen drei Gruppen gab es in der Post-hoc-Analyse keine statistisch signifikanten Unterschiede (Gruppe 1 vs. 2: $p = 0,7255$; Gruppe 1 vs. 15: $p = 0,4746$; Gruppe 2 vs. 15: $p = 0,3868$). Hingegen unterschieden sich die Nachweisraten bezogen auf alle 17 Forschungsgruppen signifikant voneinander ($p = 0,0012$).

Die einzelnen Daten sind in Abbildung 12 dargestellt.

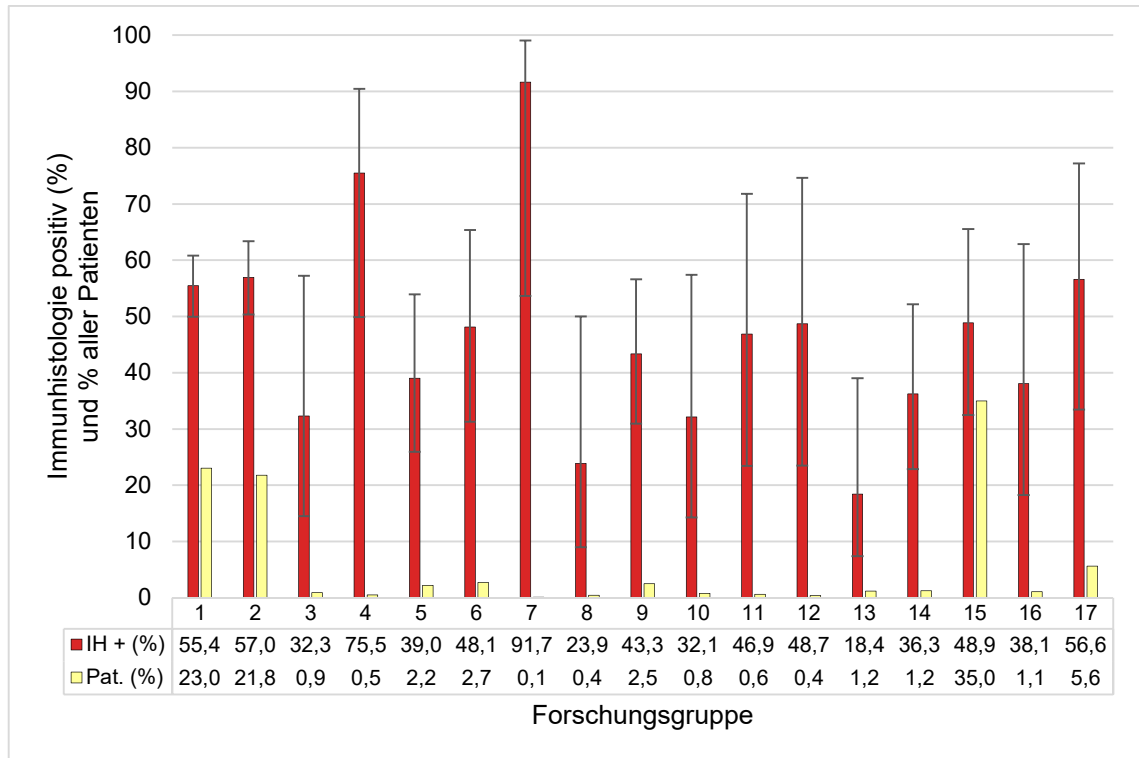


Abb. 12: Immunhistologischer Nachweis einer intramyokardialen Entzündung nach Forschungsgruppe
Die Nachweisraten sind mit 95 %-Konfidenzintervall als rote und der prozentuale Anteil der Patienten am Gesamtkollektiv als gelbe Balken dargestellt. Für die Forschungsgruppen vgl. Tab. 6. Statistischer Vergleich ausgewählter Gruppen: 1 vs. 2: $p = 0,7255$, 1 vs. 15: $p = 0,4746$, 2 vs. 15: $p = 0,3868$). IH + (%) = Immunhistologie positiv in %, Pat. (%) = prozentualer Patientenanteil in Bezug auf alle Patienten.

4.2.4.4 Nachweisraten nach Zeitpunkt der Veröffentlichung der Studien

Ziel der vorliegenden Metaanalyse war es u. a., den aktuellen Stand der Forschung im Bereich der immunhistologischen Entzündungsdiagnostik zu eruieren und einen Vergleich mit älteren Untersuchungen vorzunehmen. Dafür wurden die 2005–2014 erschienen Studien einerseits und alle davor publizierten Studien andererseits separat ausgewertet.

In den Studien der Jahre 2005–2014 wurden 73,8 % aller Patienten dieser Metaanalyse untersucht (1989–2004: 26,2 % aller Patienten). Eine Entzündung konnte immunhistologisch in 51,7 % (95 %-KI: 46,6–56,8 %) der Fälle in den aktuellen Studien und in 50,4 % (95 %-KI: 44,3–56,5 %) der Fälle in den zuvor erschienenen Publikationen nachgewiesen werden. Die Ergebnisse unterschieden sich nicht signifikant voneinander ($p = 0,7526$). Die genannten Daten sind in Abbildung 13 dargestellt.

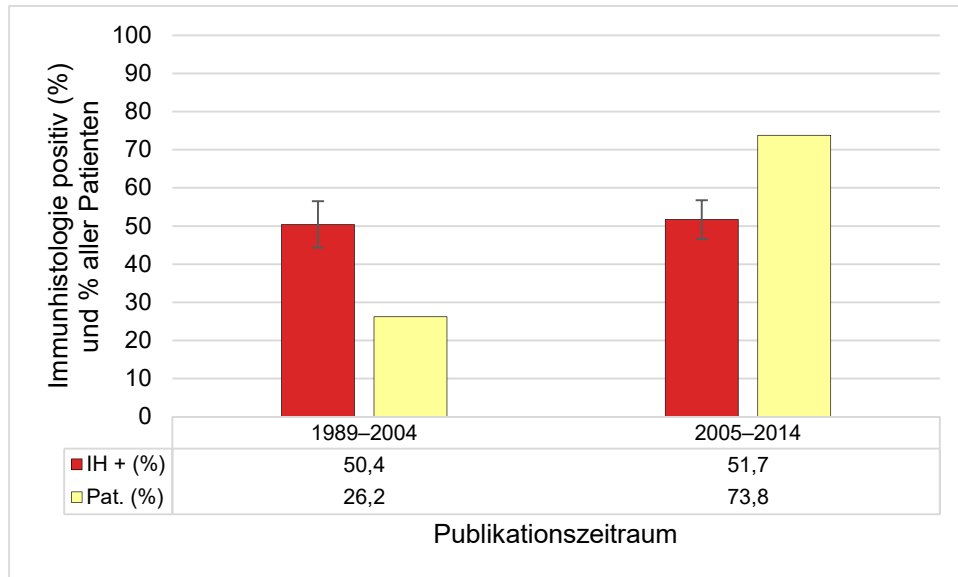


Abb. 13: Immunhistologischer Nachweis einer intramyokardialen Entzündung in verschiedenen Publikationszeiträumen

Die Nachweisraten sind mit 95 %-Konfidenzintervall als rote und der prozentuale Anteil der Patienten am Gesamtkollektiv als gelbe Balken dargestellt. Statistischer Vergleich der Publikationszeiträume: 1989–2004 vs. 2005–2014: $p = 0,7526$. IH + (%) = Immunhistologie positiv in %, Pat. (%) = prozentualer Patientenanteil in Bezug auf alle Patienten.

Abbildung 14 zeigt, in welchen Jahren die in diese Metaanalyse eingeschlossenen Studien veröffentlicht wurden.

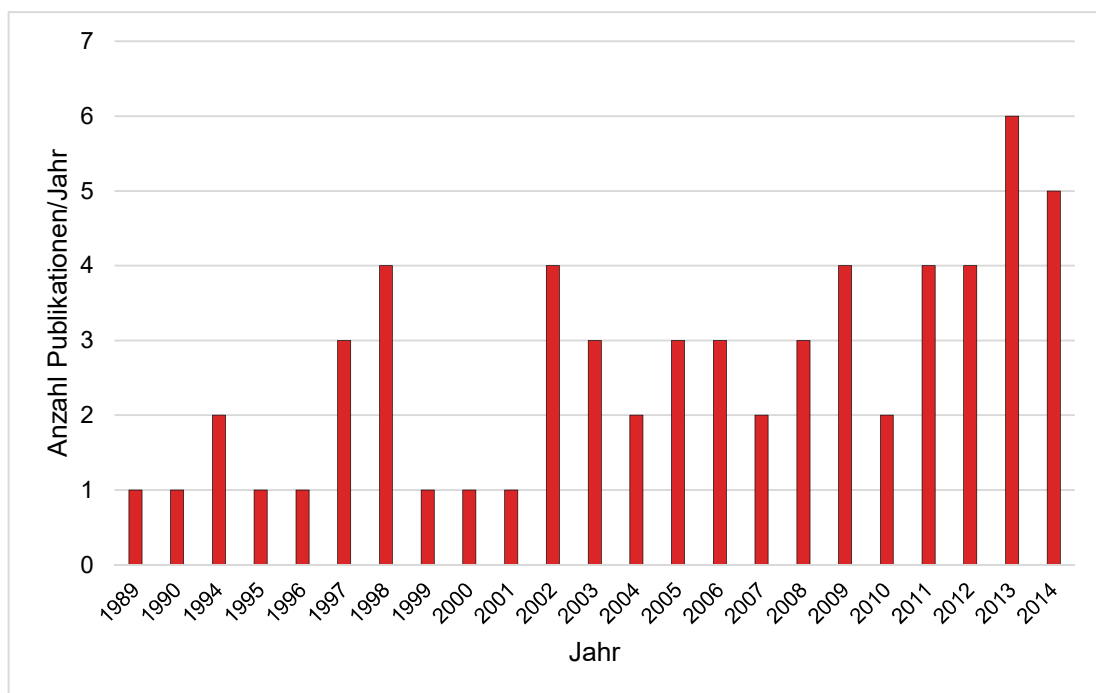


Abb. 14: Anzahl pro Jahr erschienener Publikationen in der vorliegenden Metaanalyse

4.2.4.5 Interaktion zwischen den Untergruppen nach klinischer Diagnose und Diagnosekriterium

Beim paarweisen Vergleich von jeweils zwei der vier vorgestellten Untergruppierungen sind sechs Kombinationen möglich. Von klinischem Interesse ist aber v. a. die mögliche Interaktion zwischen klinisch gestellter Diagnose und dem Diagnosekriterium unter der Fragestellung, wodurch das immunhistologische Ergebnis am besten zu erklären ist. Aus diesem Grund wird nur diese Interaktion beschrieben.

In der statistischen Analyse im Rahmen der Funktion *GLIMMIX Procedure* zeigte sich, dass bei Verwendung der Diagnosekriterien die Diagnose nicht signifikant zur Erklärung der Unterschiede zwischen den Nachweisraten beiträgt ($p < 0,0002$ für die Diagnosekriterien bzw. $p = 0,4825$ für die Diagnose).

4.3 Vergleich des immunhistologischen mit dem histologischen Nachweis einer intramyokardialen Entzündung

4.3.1 Ergebnisse der histologischen Untersuchungen im Einzelnen

In Tabelle 7 sind die 30 Studien aufgeführt, in denen neben der immunhistologischen auch eine histologische Untersuchung der EMBs bei insgesamt 3274 Patienten (31,2 % aller Patienten) durchgeführt wurde. Die Diagnose einer Myokarditis wurde anhand der Dallas-Kriterien gestellt. Die Ergebnisse sind nach aktiver und *borderline*-Myokarditis unterteilt. Die Nachweisrate einer Myokarditis insgesamt, die in den metaanalytischen Vergleich mit der Immunhistologie eingeht, errechnet sich aus der Summe der Nachweisraten von aktiver und *borderline*-Myokarditis und ist in der letzten Spalte aufgeführt.

Tabelle 7: Histologischer Nachweis einer Myokarditis nach den Dallas-Kriterien (Aretz et al. 1987)

| # | Pat. (n =) | Aktive Myokarditis (%) | <i>borderline</i> - Myokarditis (%) | Myokarditis gesamt (%) |
|----|------------|---------------------------|----------------------------------------|---------------------------|
| 03 | 130 | 0 | 5,4 | 5,4 |
| 04 | 120 | 0 | 5,0 | 5,0 |
| 05 | 176 | 0 | 8,0 | 8,0 |
| 06 | 170 | 0 | 5,3 | 5,3 |
| 07 | 134 | 0 | 4,5 | 4,5 |
| 08 | 299 | 1,3 | 4,3 | 5,7 |
| 09 | 80 | 1,3 | 5,0 | 6,3 |
| 10 | 71 | 0 | 5,6 | 5,6 |
| 11 | 65 | 1,5 | 12,3 | 13,8 |
| 12 | 75 | 0 | 0 | 0 |
| 13 | 83 | 14,5 | 36,1 | 50,6 |
| 14 | 152 | 0 | 2,0 | 2,0 |
| 15 | 12 | 50,0 | 8,3 | 58,3 |
| 17 | 46 | 0 | 0 | 0 |
| 19 | 164 | 0 | 3,0 | 3,0 |
| 21 | 80 | 0 | 13,8 | 13,8 |
| 22 | 89 | 0 | 3,4 | 3,4 |
| 24 | 124 | 0 | 0 | 0 |
| 25 | 80 | 0 | 0 | 0 |
| 30 | 84 | – | – | 9,5 |
| 34 | 83 | – | – | 0 |
| 35 | 181 | 2,8 | 35,4 | 38,1 |
| 41 | 39 | 0 | 0 | 0 |
| 43 | 124 | 3,2 | 32,3 | 35,5 |
| 45 | 186 | – | – | 39,8 |
| 47 | 125 | 0 | 0 | 0 |
| 48 | 41 | 0 | 7,3 | 7,3 |
| 50 | 175 | – | – | 38,9 |
| 54 | 44 | 0 | 6,8 | 6,8 |
| 56 | 42 | 0 | 7,1 | 7,1 |

Legende: Aufgeführt sind nur die Studien, in denen eine histologische zusätzlich zur immunhistologischen Untersuchung durchgeführt wurde. Die Nachweisrate einer Myokarditis insgesamt (letzte Spalte) ergibt sich aus der Summe der Nachweisraten von aktiver und *borderline*-Myokarditis. # = laufende Nummerierung der Studien, Pat. (n =) = Anzahl Patienten.

4.3.2 Metaanalyse der Nachweisraten einer histologisch diagnostizierten Myokarditis

Die Metaanalyse der histologischen Ergebnisse wurde analog zu den Berechnungen zur Immunhistologie durchgeführt (vgl. Kap. 4.2.2).

Am häufigsten gelang der Nachweis einer Myokarditis in Studie 15 mit 58,3 % der untersuchten Patienten. In mehreren Studien konnte histologisch bei keinem der Probanden eine Myokarditis nachgewiesen werden (Studien 12, 17, 24, 25, 34, 41 und 47). Die metaanalytisch errechnete mittlere Nachweisrate betrug 13,59 % (95 %-KI: 11,29–16,28 %) bei signifikanter Heterogenität zwischen den Studienergebnissen mit einem I^2 von 93,1 % (95 %-KI: 91,2–94,6 %; Test auf Heterogenität: $p < 0,0001$).

Das Ergebnis dieser Metaanalyse ist in Abbildung 15 als *forest plot* dargestellt. Die in der Abbildung angegebene, von den vorherigen Ausführungen abweichende mittlere Nachweisrate ergibt sich wie bei der Metaanalyse der immunhistologischen Ergebnisse durch Berechnung nach dem Modell mit zufälligen Effekten mit dem Programm *R*, Paket *meta*, Funktion *metaprop*.

4.3.3 Vergleich von Immunhistologie und Histologie

In den Vergleich der beiden genannten Untersuchungsmethoden gingen alle 61 Studien mit immunhistologischer und die 30 Studien ein, in denen zusätzlich eine histologische Untersuchung der EMBs durchgeführt wurde.

Als Vergleichsmaß wurde die *odds ratio* verwendet, die die Wahrscheinlichkeiten, ein positives Resultat im Sinne einer Entzündung mit einer der beiden Methoden zu erhalten, miteinander ins Verhältnis setzt. Es ergab sich eine *odds ratio* von 6,58 (95 %-KI: 5,76–7,52). Die Wahrscheinlichkeit, eine intramyokardiale Entzündung immunhistologisch zu diagnostizieren, ist signifikant höher als unter Verwendung der Histologie ($p < 0,0001$).

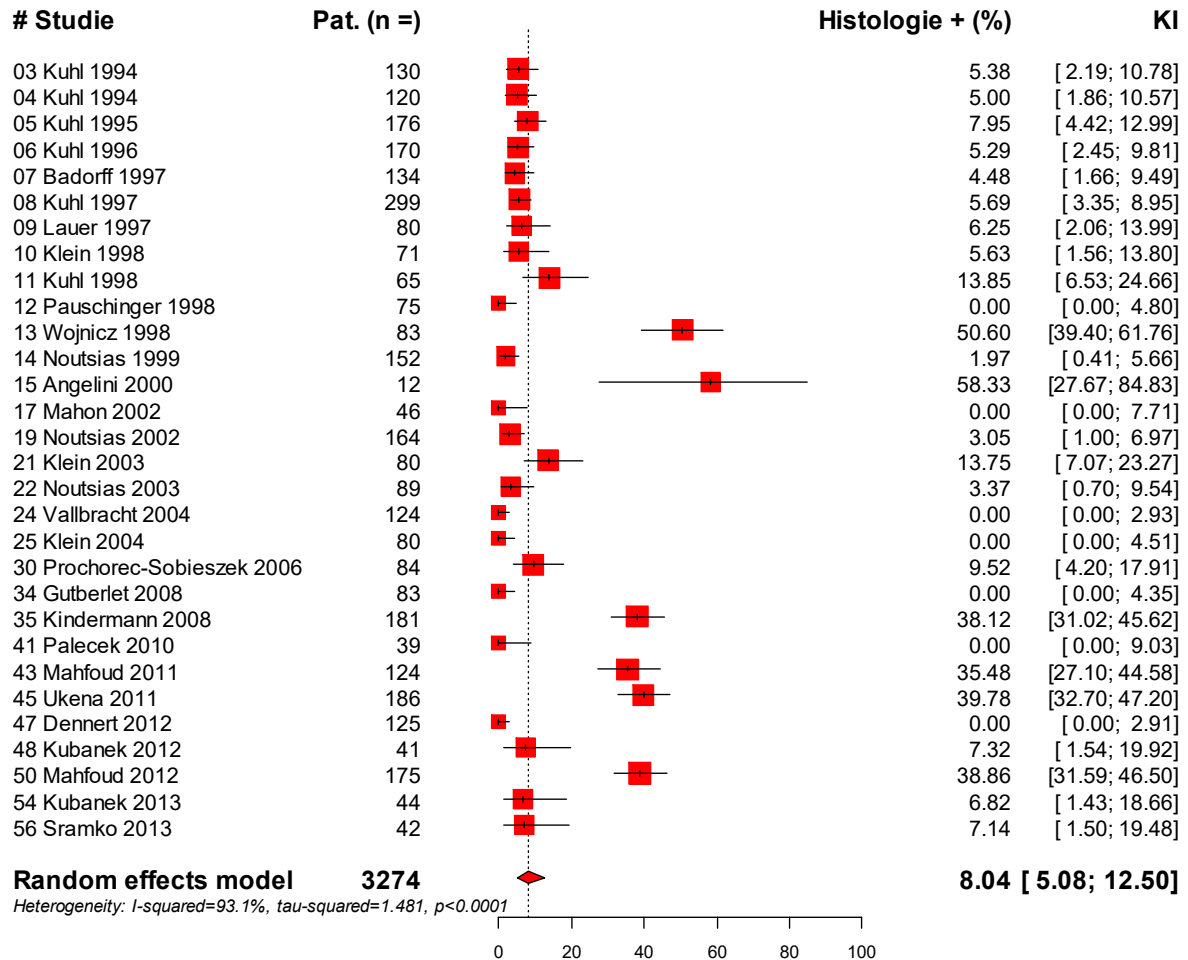


Abb. 15: *forest plot* zur Metaanalyse der Nachweisraten einer nach den Dallas-Kriterien histologisch diagnostizierten Myokarditis

Die gestrichelte vertikale Linie und die rote Raute markieren das errechnete Endergebnis, die Position der roten Quadrate illustriert die Nachweisrate jeder einzelnen Studie mit 95 %-Konfidenzintervall (schwarze horizontale Linien); die Größe der roten Quadrate korreliert mit der Wichtung einer Studie im Endergebnis. Es zeigt sich ein hohes Maß an Heterogenität (*heterogeneity*) zwischen den Studienergebnissen mit einem I^2 von 93,1 %.

Studie = laufende Nummerierung der Studien mit Angabe von Erstautor und Erscheinungsjahr, Pat. (n =) = Anzahl Patienten, Histologie + (%) = Histologie positiv in %, KI = 95 %-Konfidenzintervall, *random effects model* = Modell mit zufälligen Effekten, Angabe Gesamtpatientenzahl und Endergebnis.

4.4 Vergleich des immunhistologischen Nachweises einer intramyokardialen Entzündung mit der CMR-Diagnostik

4.4.1 Ergebnisse der CMR-Untersuchungen im Einzelnen

In 13 Studien der vorliegenden Metaanalyse wurde die immunhistologische Diagnostik bei 1185 Patienten (11,3 % aller Patienten) mit der CMR verglichen.

In allen Untersuchungen wurden Magnetresonanztomographen mit einer magnetischen Flussdichte von 1,5 Tesla eingesetzt und als Kontrastmittel Gadolinium mit einer Dosis von 0,2 mmol/kg (Studien 31, 54 und 56) bzw. 0,1 mmol/kg (restliche Studien) verwendet; in Studie 45 wurde keine Angabe zur Kontrastmitteldosis gemacht. Die MRT-Sequenzen und Schnittdicken der erhaltenen Bilder unterschieden sich zwischen den einzelnen Studien.

Für den Nachweis einer intramyokardialen Entzündung mittels CMR wurden in den einzelnen Veröffentlichungen verschiedene diagnostische Kriterien angewandt, die größtenteils auf den drei Ansätzen basierten, die bereits in Kapitel 1.1.4 beschrieben wurden: Nachweis eines myokardialen Ödems (A), einer frühen (B) und einer späten Kontrastmittelanreicherung (LGE) (C). Auf den Ansätzen (A) und (B) beruhende Kriterien wurden in mehreren Studien unter verschiedenen Bezeichnungen verwendet. Dies waren (*synonyme Begriffe* → deutsche Übersetzung):

(A) *(Myocardial) Edema Rate (/Ratio) = Relative Water Content = (Global) Myocardial Oedema* → relatives Myokard-Ödem, relativer Wassergehalt

(B) *(Global) Relative Enhancement = Hyperemia* → globale relative Anreicherung, Hyperämie

Für den Nachweis eines Ödems (A) wurde die myokardiale Signalintensität zu der eines mit abgebildeten Skelettmuskels ins Verhältnis gesetzt. Für Kriterium (B) wurde jeweils eine relative Kontrastmittelanreicherung für Myokard und Skelettmuskel aus dem Verhältnis der Zunahme der Signalintensität nach Kontrastmittelgabe und der Signalintensität vor Kontrastmittelgabe für beide Muskeltypen bestimmt; aus diesen beiden Werten wurde wiederum der Quotient gebildet. Eine Ausnahme bildeten die Studien 54 und 56: Hier wurde die myokardiale Kontrastmittelanreicherung nicht zu der eines Skelettmuskels ins Verhältnis gesetzt, sondern als absoluter Wert angegeben (B*).

Die in den einzelnen Studien verwendeten Diagnosekriterien sind in Tabelle 8 aufgeführt. Zur besseren Übersicht sind die oben beschriebenen Kriterien in der Tabelle mit (A), (B) und (B*) gekennzeichnet.

Tabelle 8: CMR-Kriterien für die Diagnosestellung einer intramyokardialen Entzündung

| # | CMR-Kriterien |
|----|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 29 | LGE (Signalintensität > 2 SD über der des umgebenden Myokards) |
| 31 | LGE (keine Definition) |
| 34 | 1. (A) ≥ 2 2. (B) ≥ 4 3. LGE (Signalintensität > 2 SD über der des umgebenden Myokards) |
| 36 | LGE (visuelle Einschätzung, Konsens zwischen zwei erfahrenen Untersuchern) |
| 38 | LGE (visuelle Einschätzung erhöhter Signalintensität in zwei rechtwinkligen Ebenen, Konsens zwischen zwei erfahrenen Untersuchern) |
| 42 | LGE (visuelle Einschätzung erhöhter Signalintensität in zwei rechtwinkligen Ebenen, Konsens zwischen zwei erfahrenen Untersuchern) |
| 44 | 1. (A) ≥ 2 2. (B) ≥ 4 3. LGE (visuelle Einschätzung) |
| 45 | LGE (keine Definition) |
| 46 | 1. (A) $\geq 1,8$ 2. (B) ≥ 5 3. LGE (visuelle Einschätzung, Konsens zwischen zwei erfahrenen Untersuchern) |
| 49 | 1. (A) $\geq 1,9$ 2. (B) ≥ 4 3. LGE (qualitative und quantitative Einschätzung) |
| 54 | 1. (A) $\geq 1,9$ 2. (B*) ≥ 45 % 3. LGE (qualitative und quantitative Einschätzung) |
| 56 | 1. (A) $\geq 1,9$ 2. (B*) ≥ 45 % 3. LGE (qualitative und quantitative Einschätzung) 4. Perikarderguss > 50 ml |
| 59 | 1. (A) ≥ 2 2. (B) ≥ 4 3. LGE (Signalintensität > 5 SD über der des umgebenden Myokards, Verteilung nicht-ischämisch) |

Legende: # = laufende Nummerierung der Studien, LGE = *late gadolinium enhancement*, SD = Standardabweichung, für die Bedeutung von (A), (B) und (B*) siehe Text.

In Studien mit mehr als einem Diagnosekriterium wurden die einzelnen Kriterien in den meisten Fällen kombiniert: Waren mindestens zwei erfüllt, durfte eine intramyokardiale Entzündung nach den *Lake-Louise*-Kriterien diagnostiziert werden (vgl. Kap. 1.1.4; Friedrich et al. 2009). Die entsprechenden Nachweisraten sowie die Art der Kombination der Einzelkriterien – falls durchgeführt – sind in Tabelle 9 aufgeführt.

Die höchste Nachweisrate einer intramyokardialen Entzündung wurde in Studie 31 mit 72,5 % der untersuchten Patienten ermittelt, die niedrigste in Studie 44 mit 27,5 %.

Es sei noch erwähnt, dass die Patienten in Studie 49 nach Dauer ihrer Symptome in zwei Gruppen eingeteilt wurden; deshalb ist diese Studie in den folgenden Ergebnistabellen jeweils zweimal aufgeführt (49a und 49b).

In Studie 31 wurden 42 Kontrollpatienten untersucht. Bei keinem konnte mittels CMR eine intramyokardiale Entzündung nachgewiesen werden.

Tabelle 9: Ergebnisse der CMR-Untersuchungen

| # | Pat. (n =) | Diagnose | MRT-Gerät, Hersteller | Hauptkriterium/ kombiniertes CMR-Kriterium | Hauptkriterium/ kombiniertes CMR- Kriterium positiv (n =) | Hauptkriterium/ kombiniertes CMR- Kriterium positiv (%) |
|------|---------------|--------------------------|------------------------------------|--------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------|
| 29 | 128 | Myokarditis | Magnetom Sonata, Siemens | Nachweis LGE | 90 | 70,3 |
| 31 | 40 | DCM | Gyroscan Intera CV, Philips | Nachweis LGE | 29 | 72,5 |
| 34 | 83 | DCM | TwinSpeed-Excite, General Electric | Zwei von drei CMR-Kriterien positiv | 34 | 41,0 |
| 36 | 71‡ | Myokarditis | Magnetom Sonata, Siemens | Nachweis LGE | 21 | 29,6 |
| 38 | 82 | Myokarditis | Magnetom Sonata, Siemens | Nachweis LGE | 53 | 64,6 |
| 42 | 270‡ | Myokarditis/ DCM | Magnetom Sonata, Siemens | Nachweis LGE | 136 | 50,4 |
| 44 | 131 | Myokarditis | Genesis Signa, General Electric | Kombination der drei CMR-Kriterien (ohne nähere Spezifizierung) | 36 | 27,5 |
| 45 | 82‡ | Myokarditis | k. A. | Nachweis LGE | 45 | 54,9 |
| 46 | 23 | DCM | Magnetom Avanto/Sonata, Siemens | Zwei von drei CMR-Kriterien positiv | 12 | 52,2 |
| 49a* | 70 | Myokarditis ≤ 14 Tage | Gyroscan Intera CV, Philips | Zwei von drei CMR-Kriterien positiv | 48 | 68,6 |
| 49b* | 62 | Myokarditis > 14 Tage | Gyroscan Intera CV, Philips | Zwei von drei CMR-Kriterien positiv | 38 | 61,3 |
| 54 | 44 | DCM | Magnetom Avanto, Siemens | Nachweis LGE | 30 | 68,2 |
| 56 | 42 | DCM | Magnetom Avanto, Siemens | Zwei von drei CMR-Kriterien positiv | 14 | 33,3 |
| 59 | 57‡ | Myokarditis | Magnetom Avanto, Siemens | Zwei von drei CMR-Kriterien positiv | 35 | 61,4 |

Legende: Aufgeführt sind nur die Studien, in denen zusätzlich zur immunhistologischen eine CMR-Untersuchung durchgeführt wurde. Die in den Studien 44 und 49 nicht angegebenen Daten zur Anzahl positiv diagnostizierter CMR-Untersuchungen wurden aus Sensitivität und Spezifität errechnet.

= laufende Nummerierung der Studien, Pat. (n =) = Anzahl Patienten, CMR = *cardiac magnetic resonance*, * = Einteilung der Patienten nach Dauer der Symptome in zwei Untergruppen, ‡ = andere Patientenzahl als bei immunhistologischer Untersuchung, k. A. = keine Angabe, DCM = dilatative Kardiomyopathie, LGE = *late gadolinium enhancement*.

4.4.2 Vergleich von Immunhistologie und CMR

Um Immunhistologie und CMR vergleichen zu können, wurden in den meisten Studien Sensitivität und Spezifität der CMR-Untersuchungen in Bezug auf die Immunhistologie als Goldstandard berechnet. Die entsprechenden Werte sind in Tabelle 10 aufgeführt. Waren Sensitivität und Spezifität nicht explizit angegeben, wurden sie, wenn möglich, aus den verfügbaren Werten errechnet. In anderen Fällen wurde aus gegebener Sensitivität und Spezifität die Anzahl der korrekt positiven, falsch negativen, falsch positiven und korrekt negativen CMR-Untersuchungen ermittelt.

Tabelle 10: Sensitivität und Spezifität der CMR-Untersuchungen in Bezug auf die Immunhistologie (IH)

| # | Pat. (n =) | IH + CMR + (n =) | IH + CMR – (n =) | IH – CMR + (n =) | IH – CMR – (n =) | Sensitivität (%) | Spezifität (%) |
|------|---------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|---------------------|-------------------|
| 29 | 128 | 83 | 4 | 7 | 34 | 95,4 | 82,9 |
| 31 | 40 | 12 | 6 | 16 | 6 | 66,7 | 27,3 |
| 34 | 83 | 30 | 18 | 4 | 31 | 62,5 | 88,6 |
| 36 | 71‡ | – | – | – | – | – | – |
| 38 | 82 | 43 | 14 | 6 | 19 | 75,4 | 76,0 |
| 42 | 270‡ | 116 | 98 | 20 | 36 | 54,2 | 64,3 |
| 44 | 131 | 32 | 50 | 4 | 45 | 39,3 | 91,3 |
| 45 | 82‡ | – | – | – | – | – | – |
| 46 | 23 | 9 | 3 | 3 | 8 | 75,0 | 72,7 |
| 49a* | 70 | 43 | 10 | 5 | 12 | 81 | 71 |
| 49b* | 62 | 19 | 11 | 19 | 13 | 63 | 40 |
| 54 | 44 | – | – | – | – | – | – |
| 56 | 42 | 10 | 5 | 4 | 23 | 67 | 85 |
| 59 | 57‡ | 35 | 22 | – | – | 61,4 | – |

Legende: Aufgeführt sind nur die Studien, in denen zusätzlich zur immunhistologischen eine CMR-Untersuchung durchgeführt wurde. In einigen Studien waren keine Daten zu Sensitivität und Spezifität angegeben. Daten in den Spalten 3–6 sind z. T. aus Sensitivität und Spezifität errechnet.

= laufende Nummerierung der Studien, Pat. (n =) = Anzahl Patienten, IH = Immunhistologie, CMR = *cardiac magnetic resonance*, – = negativ, + = positiv, * = Einteilung der Patienten nach Dauer der Symptome in zwei Untergruppen, ‡ = andere Patientenzahl als bei immunhistologischer Untersuchung.

Aus den verfügbaren Werten für Sensitivität und Spezifität der CMR wurde eine ROC-Kurve (ROC = *receiver operating characteristics*) berechnet. Am Punkt der bestmöglichen Kombination von Sensitivität und Spezifität betrug die Sensitivität der CMR-Untersuchungen 69 % (95 %-KI: 58–79 %) und die Spezifität 73 % (95 %-KI: 59–84 %) in Bezug auf die Immunhistologie als Goldstandard. Die Berechnung der Fläche unter der Kurve (*area under the curve*, AUC) ergab einen Wert von 0,77 (95 %-KI: 0,73–0,81). Zur Quantifizierung der Heterogenität zwischen den Studienergebnissen wurde der Parameter I^2 bestimmt; er betrug 95 % (95 %-KI: 90–99 %). Sensitivität und Spezifität der einzelnen Studien sowie die ROC-Kurve sind in Abbildung 16 dargestellt.

Mithilfe der Wahrscheinlichkeitsverhältnisse (*likelihood ratios*) können anhand eines positiven oder negativen Testresultats Aussagen über die Wahrscheinlichkeit des Vorliegens einer Erkrankung getroffen werden. Das positive Wahrscheinlichkeitsverhältnis errechnet sich aus dem Verhältnis der korrekt positiv und der falsch positiv getesteten Personen, das negative Wahrscheinlichkeitsverhältnis aus dem Verhältnis der falsch negativ und der korrekt negativ Getesteten (McGee 2002). Das positive Wahrscheinlichkeitsverhältnis betrug 2,6 (95 %-KI: 1,6–4,3), das negative 0,42 (95 %-KI: 0,28–0,62; vgl. Kap. 5.3.2).

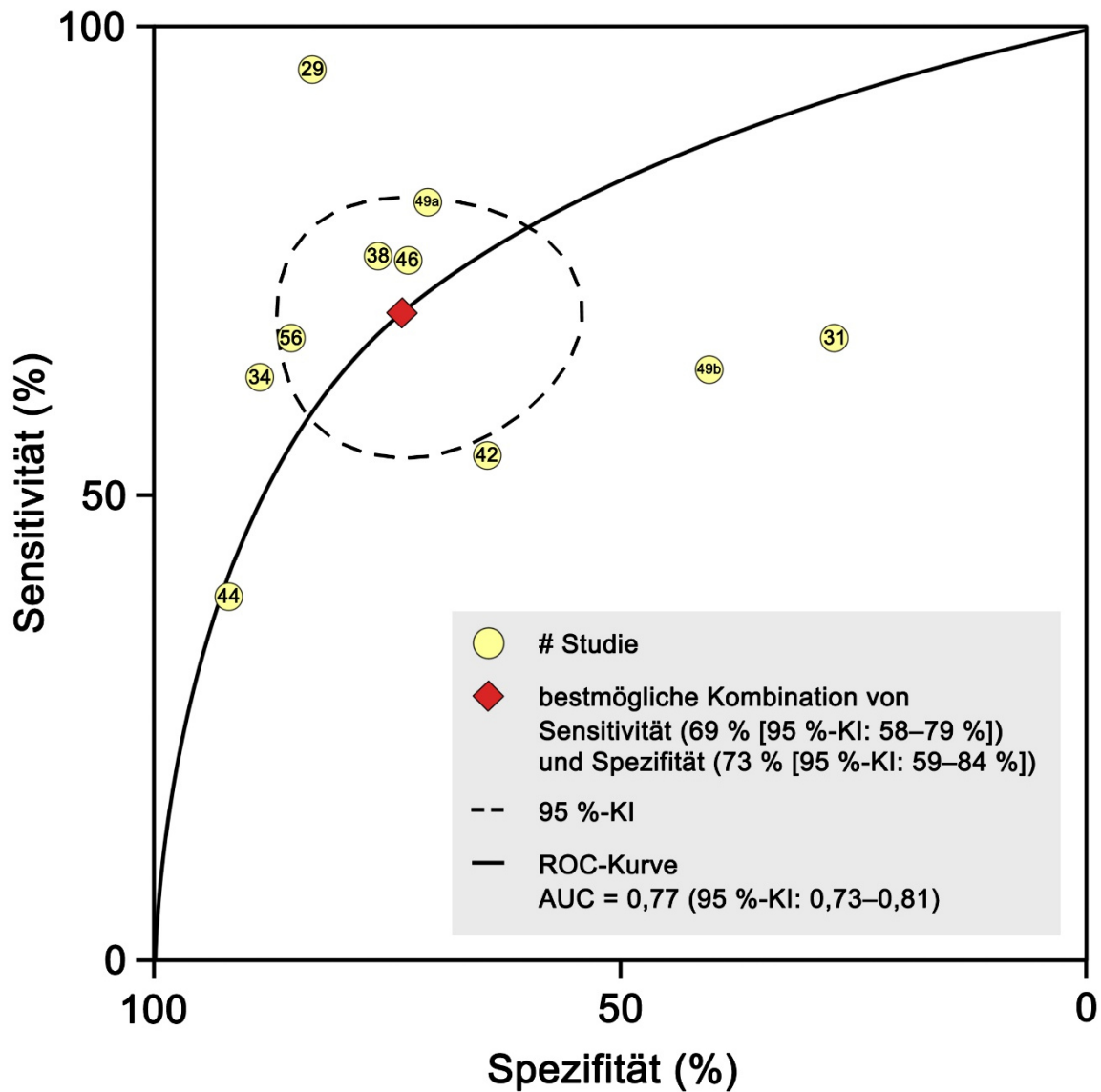


Abb. 16: ROC-Kurve für die CMR-Diagnostik in Bezug auf die Immunhistologie als Goldstandard. Sensitivität und Spezifität der CMR sind für alle Studien dargestellt, aus denen die entsprechenden Daten erhoben werden konnten (gelbe Kreise, Zahlen entsprechend der Nummerierung der Studien). Aus diesen Werten wurde eine ROC-Kurve ermittelt (durchgehende Linie). Die rote Raute steht für den Punkt der bestmöglichen Kombination von Sensitivität und Spezifität, die gestrichelte Linie für das entsprechende 95 %-Konfidenzintervall.

Studie = laufende Nummerierung der Studien, KI = Konfidenzintervall, ROC = *receiver operating characteristics*, AUC = *area under the curve*.

5 Diskussion

Im folgenden Kapitel werden die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit diskutiert und im Zusammenhang mit der aktuellen Literatur betrachtet. Analog zum Ergebnisteil wird zunächst die Metaanalyse des immunhistologischen Nachweises einer intramyokardialen Entzündung besprochen und im Anschluss deren Ergebnisse mit denen von Histologie und CMR verglichen.

5.1 Diskussion zum immunhistologischen Nachweis einer intramyokardialen Entzündung

In 61 Studien wurden EMBs von insgesamt 10 491 Patienten mit den klinischen Verdachtsdiagnosen Myokarditis oder DCM immunhistologisch auf das Vorliegen einer intramyokardialen Entzündung untersucht. Die metaanalytisch ermittelte Nachweisrate betrug 50,86 % (95 %-KI: 46,35–55,35 %).

5.1.1 Methodik

Die Suche nach und Auswahl von relevanten Publikationen erfolgte in Anlehnung an die von Noutsias (2006) festgelegten Suchbegriffe bzw. Ein- und Ausschlusskriterien. Die Literatursuche wurde analog zur Arbeit von Noutsias in *PubMed* durchgeführt, einer der umfassendsten Datenbanken im biomedizinischen Bereich (Liberati et al. 2009). Um die aktuellen Ergebnisse mit denen von Noutsias (2006) kombinieren und vergleichen zu können, wurde die Suche auf *PubMed* beschränkt. Es ist allerdings nicht auszuschließen, dass in anderen Datenbanken weitere relevante Veröffentlichungen existieren.

Aus den ursprünglichen Suchergebnissen der Jahre 2004–2014 wurden 10 400 Publikationen ausgeschlossen. Darunter gab es einige Studien, die u. a. aus den folgenden Gründen nicht in die Auswertung aufgenommen wurden, obwohl eine immunhistologische Untersuchung von EMBs beschrieben war: (1) In 53 Studien wurden Patienten vorausgewählt, bspw. nach dem Vorhandensein von Virusgenomen im Myokard. Dieses korreliert mit der Häufigkeit einer Entzündungsreaktion mitunter invers (Pauschinger et al. 1998), weshalb die Prävalenz einer intramyokardialen Entzündung nur unter Ausschluss dieser Publikationen repräsentativ ermittelt werden konnte. (2) In 30 Studien wurde kein Grenzwert definiert, ab dem eine Entzündung zu diagnostizieren ist. Dieses Vorgehen führt zu

schlecht vergleichbaren Ergebnissen mit eingeschränkter Reproduzierbarkeit. Außerdem ist ein Grenzwert nötig, um spezifische Resultate zu erhalten, denn auch bei Gesunden kann eine gewisse Anzahl von Entzündungszellen nachweisbar sein (vgl. Kap. 5.1.3.2). Aus der Metaanalyse von Noutsias (2006) wurden sieben Studien unter dem Verdacht ausgeschlossen, dass Daten derselben Patienten mehrfach verwendet wurden (*double publication*; Kim 2012). Tatsächlich wurden von einigen Autoren bzw. Arbeitsgruppen mehrere Publikationen mit vergleichbaren Patientenkohorten in kurzen zeitlichen Abständen veröffentlicht (z. B. Kuhl et al. 1994a, Kuhl et al. 1994b, Noutsias et al. 2002a, Noutsias et al. 2002b, Kindermann et al. 2008, Ukena et al. 2011, Mahfoud et al. 2011, Mahfoud et al. 2012). In keiner der Studien fand sich ein Hinweis darauf, dass Patientendaten bereits publiziert worden waren, sodass die von Noutsias geäußerte Vermutung nicht eindeutig zu beweisen ist. Ein Ausschluss von Studien aufgrund eines bloßen – wenn auch plausiblen – Verdachts wäre ebenso wie das Verschweigen von bereits publizierten Daten ein Verstoß gegen die Regeln der guten wissenschaftlichen Praxis (Deutsche Forschungsgemeinschaft 2016). Einzig die Untersuchung von Lurz et al. (2014) wurde ausgeschlossen, weil darin dieselbe Anzahl von Patienten untersucht wurde wie in einer zuvor erschienen Arbeit (Lurz et al. 2012); zudem war der Anteil von Patienten mit immunhistologisch nachgewiesener Myokarditis in beiden Publikationen identisch, sodass in diesem Fall mit hoher Wahrscheinlichkeit von einer mehrfachen Verwendung derselben Daten auszugehen ist.

In die größte Studie dieser Metaanalyse (Chimenti und Frustaci 2013) wurden von 1983–2010 insgesamt 3549 Patienten (33,8 % aller Patienten dieser Metaanalyse) eingeschlossen. Eine Myokarditis wurde in 49,4 % der Fälle nachgewiesen. Die Untersuchung der EMBs erfolgte bis 1990 histologisch und ab 1990 zusätzlich immunhistologisch. Die Diagnose von 18,4 % der Patienten mit intramyokardialer Entzündung basiert daher nur auf der Histologie (Immunhistologie: 81,6 %). Aus den verfügbaren Daten ließ sich nicht bestimmen, wie häufig eine intramyokardiale Entzündung durch ausschließliche Verwendung einer der Methoden nachgewiesen wurde. Aufgrund der großen Patientenzahl und des überwiegenden Anteils immunhistologisch diagnostizierter Myokarditiden erschien der Einschluss der Studie trotzdem sinnvoll. Um ihren Einfluss auf das Gesamtergebnis abschätzen zu können, wurde dieses unter Auslassung der Studie erneut berechnet: Es

ergab sich ein Wert von 50,91 % (95 %-KI: 47,44–54,37 %) nach dem Modell mit zufälligen Effekten (Programm *R*, Paket *meta*; einschließlich der Studie: 50,76 % [95 %-KI: 47,74–53,77 %]). Da es auch unter Ausschluss der Studie nicht zu relevanten Veränderungen des Ergebnisses kommt, ergab sich diesbezüglich kein Grund, die Studie nicht in die Auswertung einzubeziehen.

Die Empfehlungen des *PRISMA Statement* (Liberati et al. 2009) zur Erstellung von systematischen Übersichtsarbeiten und Metaanalysen wurden – insofern sie auf die vorliegende Arbeit anwendbar waren – beachtet und umgesetzt.

5.1.2 Metaanalyse der immunhistologischen Ergebnisse

5.1.2.1 Eingeschlossene Studien

Qualität der eingeschlossenen Studien

Die Aussagekraft des Ergebnisses einer Metaanalyse hängt maßgeblich von der Qualität der eingeschlossenen Studien ab. Deshalb wird empfohlen, deren Qualität zu beurteilen (da Costa und Juni 2014). Wie bereits in Kapitel 3.2 ausgeführt wurde, ließen sich in dieser Metaanalyse standardisierte Instrumente wie der Jadad-Score (Jadad et al. 1996) nicht anwenden: Für die als Zielparameter erfasste Detektionsrate eines diagnostischen Verfahrens sind bei Interventionsstudien typischerweise evaluierte Qualitätsmerkmale wie Verblindung oder Randomisierung nicht im selben Maße relevant. Zusätzlich wurde die Qualitätseinschätzung dadurch erschwert, dass die immunhistologische Untersuchung häufig nicht unmittelbares Ziel der Studien war, sondern die Grundlage für weiterführende Analysen bildete – bspw. differentielle Genexpression oder Prognoseberechnungen –, die im Mittelpunkt der Arbeit standen. Dementsprechend sind die Ausführungen zu methodischen Aspekten der Immunhistologie mitunter auf das Wesentliche beschränkt; dies unterstreicht im gleichen Zuge, dass die immunhistologische Untersuchung von EMBs von verschiedenen Arbeitsgruppen als Standard in der Diagnostik der DCMi betrachtet wird. Trotz der genannten Einschränkungen lassen sich einige Gesichtspunkte benennen, die zur Qualitätseinschätzung der Studien und der daraus abgeleiteten Metaanalyse herangezogen werden können:

Negativ zu bewerten ist zum einen die unzureichende Beschreibung methodischer Aspekte: So wurde in 54 % der Studien keine Angabe zur Schnittdicke der untersuchten

Präparate gemacht; abhängig davon unterscheidet sich jedoch die mögliche Menge übereinanderliegender Zellen, die in der Draufsicht in der Summe zu einer größeren Anzahl von Zellen pro Fläche führen kann. Außerdem fehlten z. T. Angaben zu den verwendeten Antikörpern und deren Herstellern. Zum anderen besteht eine wesentliche Einschränkung dieser Metaanalyse in der zwischen den Studien differierenden Methodik, konkret den verschiedenen immunhistologischen Kriterien, die zur Diagnosestellung einer intramyokardialen Entzündung herangezogen wurden. Diesem Problem wurde mit einer Auswertung jedes einzelnen Diagnosekriteriums begegnet (vgl. Kap. 5.1.3.2).

Positiv einzuschätzen ist die große Anzahl von Patienten, deren Daten über einen Zeitraum von 25 Jahren an verschiedenen Zentren zusammengetragen wurden. Überdies ergeben sich aus der Vielzahl der Diagnosekriterien auch positive Aspekte: Eine mittlere Nachweisrate auf der Basis verschiedener Kriterien kann u. U. näher am wahren Wert liegen als wenn nur ein – im schlechtesten Fall ungeeignetes – Kriterium verwendet würde. Mit der nun vorhandenen Erfahrung kann ein fundierter Vergleich der einzelnen Kriterien erfolgen.

Abschließend soll angemerkt werden, dass die Einschätzung der Qualität ausschließlich auf Äußerungen in den Studien beruht. Damit sind Rückschlüsse auf die tatsächlich durchgeführten, aufwändigen Untersuchungen nur eingeschränkt möglich – sowohl im positiven als auch im negativen Sinne.

Publication bias

Das Ergebnis einer Metaanalyse kann u. a. durch ein *publication bias* verzerrt werden. In der vorliegenden Arbeit wurde die Detektionsrate eines diagnostischen Verfahrens untersucht, die per se weder ein positives noch negatives Ergebnis darstellt; zudem war die Immunhistologie wie bereits erwähnt häufig nicht das zentrale Thema der Studien. Eine Selektion der Studien in Abhängigkeit vom immunhistologischen Ergebnis und damit ein *publication bias* waren somit nicht zu erwarten. Dies konnte im Test auf Asymmetrie des *funnel plot* (Abb. 9) bestätigt werden ($p = 0,4264$).

Heterogenität

Die Heterogenität ist ein wichtiger Parameter bei der Beurteilung des Ergebnisses einer Metaanalyse. Bereits bei visueller Einschätzung des *forest plot* (Abb. 8) fällt auf, dass die Studienergebnisse eine weite Streuung aufweisen. Der zur Quantifizierung der Heterogenität verwendete Parameter I^2 betrug 86,2 % (95 %-KI: 83,0–88,8 %). Damit liegt ein hohes Maß an Heterogenität vor: 86 % der bestehenden Unterschiede werden durch die differenten Studienergebnisse erklärt, nur 14 % kommen durch zufällige Abweichungen zustande (Higgins und Thompson 2002). Zusätzlich wurde der Parameter τ^2 (Tau zum Quadrat, englisch *tau-squared*) bestimmt, der die Variabilität zwischen den Studien beschreibt und im Gegensatz zu I^2 unabhängig von der Patientenzahl der eingeschlossenen Studien ist. Es wurde ein τ^2 von 0,1744 berechnet. Die Quadratwurzel $\tau = 0,4176$ entspricht der Standardabweichung der zufälligen Effekte. Diese Werte bestätigen, dass ein hohes Maß an Heterogenität vorliegt (Rucker et al. 2008, Higgins und Green 2011).

Die vorliegende Heterogenität kann z. T. durch Aufteilung der Studien in Untergruppen erklärt werden (vgl. Kap. 5.1.3). Außerdem könnten zur Erklärung der differierenden Ergebnisse beitragen: die unterschiedliche Auswahl der Patienten anhand ihrer klinischen Symptomatik, die Zeitspanne von Symptombeginn bis zur EMB, methodische Aspekte bei der Verarbeitung der EMBs, die jeweils eingesetzte Schnittdicke, die verwendeten Antikörper und die Art der Quantifizierung durch Untersucher oder digitale Bildanalyse-systeme. Nicht auszuschließen sind zuletzt Besonderheiten einzelner Publikationen, die zu einem besonders hohen oder niedrigen Ergebnis geführt haben könnten:

Die höchsten Nachweisraten einer intramyokardialen Entzündung wurden in den Studien 15, 20 und 32 mit ca. 92, 82 und 79 % ermittelt (Angelini et al. 2000, Vallbracht et al. 2002, Vallbracht-Israng et al. 2007). In Studie 15 kann das Ergebnis u. a. durch die selektierte Patientenpopulation erklärt werden: Eingeschlossen wurden nur Patienten mit einer Symptomatik ähnlich der eines akuten Myokardinfarkts. Eine intramyokardiale Entzündung wurde beim Nachweis von $> 8,8$ CD45+/CD45R0+/CD43+/CD20+ Lymphozyten/mm² angenommen. Vermutlich wurden auch CD68+ Makrophagen mit einbezogen, obwohl diese genau genommen zwar Leukozyten, aber keine Lymphozyten sind. Dieses Kriterium wurde ausschließlich in Studie 15 verwendet. Der Nachweis von CD45 (*leukocyte common antigen*) könnte zu einem wenig spezifischen Ergebnis geführt haben, da CD45 auch auf Mastzellen und Histiozyten vorkommt (Schnitt et al. 1987). CD68 als

Marker für Makrophagen wurde auch in anderen Studien verwendet, aber immer mit einem Grenzwert von > 14 Zellen/mm². Dagegen erscheinen 8,8 Zellen/mm² – einschließlich zahlreicher anderer Phänotypen – als deutlich zu niedrig gewählt: In der Studie von Mahon et al. (2002) wurden bei Kontrollpatienten durchschnittlich 40 CD68+ Zellen/mm² nachgewiesen. Auch in Studie 20 könnte die Selektion der Patienten das Ergebnis beeinflusst haben: Patienten mit Diabetes mellitus, Arteriosklerose, renaler oder hepatischer Funktionsstörung, schwer eingeschränkter linksventrikulärer Funktion und Vorhofflimmern wurden ausgeschlossen. In Studie 32 konnten derartige Auffälligkeiten nicht festgestellt werden.

Die niedrigsten Nachweisraten wurden in den Studien 47, 17 und 6 mit ca. 18, 24 und 28 % ermittelt (Dennert et al. 2012, Mahon et al. 2002, Kuhl et al. 1996). In Studie 47 könnte das Diagnosekriterium ursächlich sein: Eine Entzündung wurde beim Nachweis von > 14 CD45+ Lymphozyten/mm² angenommen. Auch in anderen Studien wurden Lymphozyten mithilfe der – spezifischeren (s. o.) – Marker CD2 und CD3 nachgewiesen, allerdings bei einem niedrigeren Grenzwert von > 7 Lymphozyten/mm². Der Wert von 14 Zellen/mm² wiederum wurde in anderen Studien beim Nachweis von Lymphozyten und Makrophagen genutzt. Zwar wurden auch in Studie 47 CD68+ Makrophagen untersucht, aber der Methodenbeschreibung zufolge nicht in die Auswertung einbezogen. In Studie 17 könnte das niedrige Ergebnis mit der Auswahl der 46 Patienten zusammenhängen: Bei 32 Studienteilnehmern handelte es sich um asymptotische Verwandte von DCM-Patienten, bei denen eine linksventrikuläre Dilatation festgestellt worden war. Allerdings wurde bei den 14 Patienten mit symptomatischer DCM eine intramyokardiale Entzündung noch seltener nachgewiesen. In Studie 6 fanden sich keine Besonderheiten, die das Ergebnis erklären könnten.

Trotz des großen Ausmaßes an Heterogenität erscheint die Kombination der Studien sinnvoll: Im Gegensatz zu den Effektmaßen von Interventionsstudien beschreiben die Nachweisraten zwischen 18,4 und 91,7 % keine prinzipiell gegensätzlichen Sachverhalte – wie bspw. Nutzen oder Schaden durch ein Medikament –, die gegen eine gemeinsame Auswertung sprechen würden.

5.1.2.2 Mittlere Nachweisrate einer intramyokardialen Entzündung

Bei Patienten mit klinischem Verdacht auf Myokarditis oder DCM wurde eine intramyokardiale Entzündung immunhistologisch in 50,86 % (95 %-KI: 46,35–55,35 %) der Fälle nachgewiesen (Berechnung mit dem Programm *SAS*, *GLIMMIX procedure*, gemischtes Modell). Dieses Ergebnis wurde anhand von 61 Studien ermittelt, in denen insgesamt 10 491 Patienten untersucht wurden. Damit ist die vorliegende Metaanalyse die bislang umfassendste Zusammenstellung dieser Art.

Wie erwähnt, erfolgte die Berechnung mit *SAS* nach einem gemischten Modell. Bei der Erstellung des zugehörigen *forest plot* (Abb. 8) wurde das Programm *R*, Paket *meta* genutzt (Schwarzer 2015), mit dem die Metaanalyse nach den Modellen mit festem (*fixed-effect model*) bzw. zufälligen Effekten (*random-effects model*) berechnet wird. Die entsprechenden Ergebnisse waren 49,60 % (95 %-KI: 48,62–50,58 %) bzw. 50,76 % (95 %-KI: 47,74–53,77 %). Ausgehend vom hohen Ausmaß an Heterogenität zwischen den Studien erscheint das Modell mit zufälligen Effekten zur Bestimmung eines repräsentativen Mittelwerts besser geeignet. Allerdings sollte die Entscheidung für eines der Modelle nicht auf dem Vorhandensein oder Fehlen von Heterogenität basieren (da Costa und Juni 2014). In Anbetracht der methodischen Unterschiede zwischen den Studien – z. B. verschiedene Diagnosen und Diagnosekriterien – ist jedoch eher davon auszugehen, dass die einzelnen Studien verschiedene Effekte messen, als dass immer derselbe Effekt existiert und bestehende Unterschiede nur auf zufälligen Abweichungen beruhen. Daher sollte das Ergebnis des Modells mit zufälligen Effekten bzw. das gemischte Modell bevorzugt berücksichtigt werden. Die Tatsache, dass sich bei Berechnung in zwei verschiedenen Programmen nach zwei Modellen ein beinahe identischer Wert ergibt, unterstreicht die Validität der verwendeten statistischen Methode.

Die immunhistologische Untersuchung von EMBs auf das Vorliegen einer intramyokardialen Entzündung kann als sehr spezifische Methode gelten: In 17 Studien dieser Metaanalyse wurden insgesamt 460 Kontrollpatienten untersucht; bei keinem wurde eine intramyokardiale Entzündung nachgewiesen. Wie bereits in Kapitel 4.1.2.3 erläutert, kann diese hohe Spezifität nicht statistisch sinnvoll belegt werden, weil die *odds ratio* zum Vergleich der Patienten mit den Kontrollen einen unendlich großen Wert annehmen würde.

Einschränkend muss angemerkt werden, dass die Kontrollpatienten nicht die gesunde Normalbevölkerung repräsentieren. Dass keine Untersuchungen mit gesunden Probanden existieren, ist darin begründet, dass EMBs einzig zu Forschungszwecken wegen der potentiell bedrohlichen Komplikationen ethisch nicht vertretbar sind. Für die Kontrolluntersuchungen in den betreffenden Studien dieser Metaanalyse wurde Myokardgewebe u. a. im Rahmen von Autopsien und durch EMBs bei Patienten mit kardialen Vorerkrankungen gewonnen, bei denen kein Verdacht auf eine inflammatorische kardiale Erkrankung bestand. Es ist nicht auszuschließen, dass das vorliegende Ergebnis durch die Autolyse des im Rahmen der Autopsien entnommenen Gewebes oder bei den Kontrollpatienten mit kardialen Vorerkrankungen durch bestimmte pathogenetische Prozesse – wie bspw. Schwäche des Immunsystems und Unfähigkeit zur Ausbildung einer nachweisbaren Infiltration im Rahmen eines Diabetes mellitus (Geerlings und Hoepelman 1999) – beeinflusst wurde. So könnte die Untersuchung gesunder Personen zu einem anderen Resultat führen: Bspw. wurde in der Arbeit von Mahon et al. (2002) bei scheinbar gesunden Verwandten von DCM-Patienten in 25 % der Fälle eine intramyokardiale Entzündung nachgewiesen; die untersuchten Personen zeigten keine Symptome der Herzinsuffizienz, hatten aber zum Untersuchungszeitpunkt bereits eine geringfügige linksventrikuläre Dilatation.

5.1.3 Nachweisraten einer intramyokardialen Entzündung in verschiedenen Untergruppen

5.1.3.1 Nachweisraten nach klinischer Diagnose

In den in diese Metaanalyse eingeschlossenen Studien wurden Patienten mit den klinischen Verdachtsdiagnosen Myokarditis und DCM untersucht. Eine intramyokardiale Entzündung wurde immunhistologisch bei

- 58,6 % (95 %-KI: 51,2–65,0 %) der Patienten mit Myokarditis (1),
- 47,0 % (95 %-KI: 42,3–51,7 %) der Patienten mit DCM (2) und
- 54,2 % (95 %-KI: 40,2–67,6 %) der Patienten mit Myokarditis oder DCM (3)

nachgewiesen. Dabei unterschieden sich einzig die Nachweisraten zwischen den Verdachtsdiagnosen (1) und (2) signifikant voneinander ($p = 0,0053$).

Die einzelnen Ergebnisse sind insofern in sich schlüssig, dass die mittlere Nachweisrate der Studien, in denen beide Verdachtsdiagnosen zum Einschluss der Patienten führten (3), zwischen der der Studien mit nur einer der Diagnosen liegt ([1], [2]), wobei einschränkend das weite Konfidenzintervall dieser Gruppe (3) beachtet werden muss.

Die Myokarditis ist als entzündliche Erkrankung des Herzmuskels definiert (Richardson et al. 1996). Dass in Anbetracht dessen eine Entzündung bei nur 58,6 % der 1899 Patienten nachgewiesen wurde, kann in erster Linie durch die unspezifische Symptomatik der Erkrankung erklärt werden. Zudem ist auch bei der immunhistologischen Untersuchung von EMBs ein gewisser *sampling error* (vgl. Kap. 5.2.2) anzunehmen. Dem Ergebnis dieser Metaanalyse zufolge muss bei klinischem Verdacht auf Myokarditis der vermutete Anteil von Patienten mit intramyokardialer Entzündung im Vergleich zu großen Untersuchungen wie dem *Myocarditis-Treatment-Trial* (Mason et al. 1995) nach oben korrigiert werden: Hier wurde eine Myokarditis in 9,6 % der Fälle nachgewiesen (n = 2233). Dieses Ergebnis erklärt sich am ehesten durch die ausschließlich histologische Untersuchung der EMBs, die eine vergleichsweise niedrige Sensitivität hat (vgl. Kap. 5.2).

Bei Patienten mit der Verdachtsdiagnose DCM wurde eine intramyokardiale Entzündung in 47,0 % der Fälle nachgewiesen. Entzündungsvorgänge im Myokard sind bei dieser Erkrankung demnach häufiger als bisher angenommen: Bspw. wurde in der Studie von Felker et al. (2000b) eine Myokarditis bei 9 % der 1230 Patienten mit initial ungeklärter Kardiomyopathie diagnostiziert – auch hier dürfte in der ausschließlich histologischen Begutachtung der EMBs der Grund für die niedrige Nachweisrate liegen (vgl. Kap. 5.2). Dass sich bei 47,0 % der Patienten mit DCM eine intramyokardiale Entzündung nachweisen lässt (DCMi), kann als Indiz dafür gewertet werden, dass entzündliche Prozesse bei diesem großen Anteil der DCM-Patienten eine Rolle in der Pathogenese spielen. Die Entwicklung, Validierung und Etablierung kausaler Therapieverfahren zusätzlich zur konventionellen Herzinsuffizienztherapie ist somit eine folgerichtige, pathogenetisch begründbare Behandlungsoption, von der fast die Hälfte aller DCM-Patienten profitieren könnte.

Die Nachweisraten einer intramyokardialen Entzündung unterschieden sich signifikant zwischen den Verdachtsdiagnosen Myokarditis und DCM. In Anbetracht der Tatsache, dass die Myokarditis als entzündliche Erkrankung definiert ist, klinisch eher akut verläuft

und im Gegensatz zur DCM nicht zwangsläufig mit einer Einschränkung der linksventrikulären Funktion einhergeht, und die DCM andererseits ein großes Spektrum an möglichen – auch nichtentzündlichen – Ursachen umfasst, ist dieser Unterschied jedoch relativ gering ausgeprägt. Dies lässt sich durch die ähnliche klinische Präsentation der beiden Erkrankungen erklären, welche sich mitunter nur im zeitlichen Verlauf der Symptome unterscheidet. In Ermangelung eines definierten zeitlichen Grenzwertes zur Differenzierung zwischen akuter Myokarditis und DCM als chronischer Verlaufsform könnte sich die Klassifizierung der Patienten innerhalb und zwischen den Studien unterscheiden und zum vorliegenden Ergebnis beigetragen haben. Ebenso könnte der potentiell subklinische Verlauf der akuten Myokarditis (D'Ambrosio et al. 2001) eine Rolle gespielt haben: Patienten mit subklinischer Myokarditis, deren Symptomatik sich erst im Stadium der DCM manifestierte, wurden dementsprechend als DCM- und nicht als Myokarditis-Patienten klassifiziert.

Die dennoch bestehenden Unterschiede können damit begründet werden, dass ein pathogenetisch abgrenzbarer Anteil von DCM-Erkrankungen auf Ursachen zurückgeht, die zwar zur Ausbildung einer DCM führen, aber nicht mit einer intramyokardialen Entzündung einhergehen; zu nennen sind z. B. die arterielle Hypertonie bei der hypertensiven Kardiomyopathie, der Diabetes mellitus bei der diabetischen Kardiomyopathie und genetische Veränderungen bei der großen Gruppe der genetisch bedingten Kardiomyopathien (vgl. Kap. 1.1.2). Dadurch verringert sich der Anteil von DCM-Fällen mit entzündlicher Komponente.

In der Studie von Bultmann et al. (2005) wurden 26 Patientinnen mit PPCM untersucht. Eine intramyokardiale Entzündung wurde in 73,1 % der Fälle nachgewiesen, und damit deutlich häufiger als bei den übrigen DCM-Patienten. Dieses Ergebnis unterstützt die Annahme, dass sich die PPCM und die DCM in wesentlichen Punkten z. B. hinsichtlich der Pathogenese unterscheiden (Bollen et al. 2014). Zudem liefert es einen wichtigen Ansatzpunkt für zukünftige Untersuchungen zur Pathogenese der PPCM, die dieses vorläufige Ergebnis bestätigen könnten.

Zur Epidemiologie insbesondere der Myokarditis existieren nur wenige gesicherte Daten. Deshalb sollen die epidemiologischen Charakteristika der in dieser Metaanalyse untersuchten Patienten kurz dargestellt werden. Das Durchschnittsalter der 1571 Patienten mit Myokarditis betrug 42,0 Jahre, das der 2422 DCM-Patienten 48,4 Jahre (Berechnung des

Mittelwertes aus allen Studien, in denen ein entsprechender Wert angegeben war, Gewichtung nach Patientenzahl). Der Anteil der Frauen betrug unter den Patienten mit Myokarditis 38,2 % (Männer 61,8 %, $n = 1691$) und unter den Patienten mit DCM 32,4 % (Männer 67,6 %, $n = 2618$). Die Daten der Patienten mit Myokarditis sind vergleichbar mit denen aus dem *Myocarditis-Treatment-Trial* (Mason et al. 1995) – Durchschnittsalter 42,2 Jahre, Anteil Frauen 37,8 %, $n = 111$ –, die der DCM-Patienten mit denen aus der Studie von Felker et al. (2000b) an Patienten mit ungeklärter Kardiomyopathie – Durchschnittsalter 48,0 Jahre, Anteil Frauen 40,0 %, $n = 1230$.

5.1.3.2 Nachweisraten nach Diagnosekriterium

In den Studien dieser Metaanalyse wurden 13 verschiedene Diagnosekriterien genutzt, nach denen über das Vorhandensein einer intramyokardialen Entzündung entschieden wurde. Dabei wurden folgende Kriterien – in vereinfachter Form – am häufigsten verwendet (Nummer des Kriteriums [vgl. Kap. 4.2.4.2]: Kriterium – Nachweisrate [95 %-KI]):

- 1: > 7 CD3+ Lymphozyten/mm² – 43,6 % (38,0–49,3 %)
- 10: > 14 CD3+/CD68+ Leukozyten/mm² – 56,0 % (50,2–61,6 %)
- 12: > 7 CD3+ Lymphozyten/mm² oder > 14 CD3+/CD68+ Leukozyten/mm² – 45,1 % (35,8–54,8 %)
- 13: CAMs – 61,4 % (52,0–70,0 %)

Die Nachweisraten unterschieden sich signifikant zwischen den Kriterien 1 und 10 ($p = 0,0027$), 1 und 13 ($p = 0,0015$) sowie 12 und 13 ($p = 0,0179$). Die Unterschiede zwischen den Kriterien 1 und 12 ($p = 0,7802$), 10 und 13 ($p = 0,3328$) sowie 10 und 12 ($p = 0,0586$) waren nicht oder grenzwertig signifikant.

Die EMBs von 89,4 % aller Patienten wurden anhand eines dieser vier Kriterien untersucht, auf die sich deshalb die folgende Diskussion konzentriert. Die Diagnosekriterien der Studien mit den höchsten bzw. niedrigsten Nachweisraten wurden bereits in Kapitel 5.1.2.1 kritisch betrachtet.

Die Kriterien 1 und 10 unterscheiden sich hinsichtlich des nachgewiesenen Zelltyps: Kriterium 1 basiert auf dem Nachweis von Lymphozyten (CD3+), Kriterium 10 auf dem von Lymphozyten oder Makrophagen (CD3+/CD68+), zusammenfassend als Leukozyten bezeichnet. Kriterium 12 stellt eine Kombination der Kriterien 1 und 10 dar: Die Bedingung

mindestens eines dieser Kriterien muss erfüllt sein. Demnach hätte man theoretisch unter Verwendung von Kriterium 12 eine höhere Nachweisrate erwarten können als mit den Kriterien 1 oder 10; tatsächlich war das Ergebnis niedriger im Vergleich zu Kriterium 10 und ähnlich dem von Kriterium 1. Ursächlich dafür ist am ehesten die Verteilung der klinischen Diagnosen in den zugehörigen Studien: Mit Kriterium 10 wurden in 9 Studien Patienten mit Myokarditis, in 6 Studien Patienten mit DCM und in 2 Studien Patienten mit beiden Verdachtsdiagnosen untersucht (9 : 6 : 2). Für die Kriterien 1 und 12 betrug dieses Verhältnis 3 : 14 : 0 bzw. 1 : 3 : 2. Wie oben beschrieben, wurde eine intramyokardiale Entzündung bei Patienten mit Myokarditis signifikant häufiger nachgewiesen als bei DCM-Patienten, wodurch sich die hohe Nachweisrate von Kriterium 10 erklärt, mit dem im überwiegenden Anteil von Studien Patienten mit Myokarditis untersucht wurden. Mit Kriterium 12 hingegen wurden in nur einer Studie Patienten mit Myokarditis untersucht, unter denen zudem ein verhältnismäßig geringer Anteil von 48,3 % eine intramyokardiale Entzündung aufwies.

Bei der Vielzahl an Diagnosekriterien erscheint eine Standardisierung der immunhistologischen Diagnostik wünschenswert. Diesbezüglich wurden bereits Versuche unternommen: Edwards et al. (1982) schlugen für die histologische Diagnosestellung einer Myokarditis einen Grenzwert von 5 Lymphozyten/HPF vor, Kuhl et al. (1994a) nutzten unter Verwendung der Immunhistologie zunächst einen Grenzwert von > 6 CD3+/CD2+ Lymphozyten/mm², der in späteren Studien dieser Arbeitsgruppe zu > 7 CD3+/CD2+ Lymphozyten/mm² modifiziert wurde (z. B. Kuhl et al. 1995, Kuhl et al. 1996, Noutsias et al. 2003b). Der aktuellste Versuch einer Standardisierung stammt von Maisch et al. (2000), die den Nachweis von ≥ 14 Leukozyten/mm² als Bedingung für die Diagnosestellung einer Myokarditis postulierten.

Die verschiedenen Grenzwerte basieren auf der Untersuchung von Kontrollpatienten: Linder et al. (1985) wiesen bei Patienten ohne kardiale Vorerkrankungen 3,6 Lymphozyten/mm² nach, Kuhl et al. (1994a) 1,5–2,4 CD3+/CD2+ Lymphozyten/mm² bei Patienten mit koronarer Herzkrankheit, Klappenerkrankungen oder hypertropher Kardiomyopathie und Noutsias et al. (2002a) 3,9 CD3+/CD2+ Lymphozyten/mm² bei Patienten mit nicht-kardialer Todesursache. Dagegen ermittelten Nielsen et al. (2014) einen deutlich höheren Wert von durchschnittlich 9,7 CD3+ Lymphozyten/mm² in der bisher größten Kohorte ohne kardiale Vorerkrankungen von 86 Suizidfällen. In den Studien von Dennert et al.

(2012) und Mahon et al. (2002) wurden durchschnittlich 5,6 bzw. 40 CD68+ Makrophagen/mm² bei Patienten mit koronarer Herzkrankheit nachgewiesen.

Nielsen et al. (2014) untersuchten CD68+ Makrophagen bei 112 Patienten mit histologisch gesicherter Myokarditis. Die Autoren beschreiben, dass sich die Makrophagen häufig in Clustern organisierten, sodass eine Identifizierung einzelner Zellen und somit eine exakte Quantifizierung unmöglich sei.

Aus diesem Grund und der stark differierenden Infiltrationsdichte der Makrophagen bei Kontrollpatienten scheint ihr Nachweis als Grundlage für die Diagnosestellung einer intramyokardialen Entzündung weniger geeignet zu sein als der von Lymphozyten. Dies lässt sich auch pathogenetisch begründen: Die Myokarditis wird als eine auf der Infiltration von Lymphozyten beruhende Erkrankung angesehen; dieser Umstand spiegelt sich u. a. darin wider, dass im englischen Sprachgebrauch häufig der Terminus *lymphocytic myocarditis* (lymphozytäre Myokarditis) verwendet wird (z. B. Amoruso et al. 2015, Davidoff et al. 1991, Edwards et al. 1982, Frustaci et al. 2003, Hare und Baughman 2001, O'Connell et al. 1990, Vignola et al. 1984).

Doch auch eine auf dem Nachweis von > 7 CD3+/CD2+ Lymphozyten/mm² basierende Diagnose wirkt in Anbetracht der Studie von Nielsen et al. (2014), in der 9,7 CD3+ Lymphozyten/mm² bei 86 Kontrollpatienten nachgewiesen wurden, fragwürdig. Die Autoren dieser Studie schlagen einen Grenzwert im Bereich von 11–16 Lymphozyten/mm² vor, mit dem sich eine Sensitivität von 68 % und eine Spezifität von 83 % erzielen ließe. Aufgrund der weiten Streuung der Infiltrationsdichte würde damit ein Drittel der Myokarditis-Fälle nicht erfasst werden.

Neben Infiltraten eignen sich auch CAMs als Grundlage für die immunhistologische Diagnosestellung einer intramyokardialen Entzündung (Herskowitz et al. 1990). Dabei wird häufig die Expression mindestens drei verschiedener CAMs gefordert, weil einzelne CAMs auch bei Kontrollpatienten exprimiert werden (Noutsias et al. 2004). Wie in dieser Metaanalyse gezeigt wurde, lässt sich mit den auf dem Nachweis von CAMs basierenden Kriterien eine intramyokardiale Entzündung signifikant häufiger nachweisen als mit den auf Infiltraten basierenden Kriterien 1 und 12. Im Gegensatz zu Kriterium 10 wurden mit den auf CAMs basierenden Kriterien in der Mehrzahl der Studien Patienten mit DCM (4 Studien, Myokarditis: 2 Studien) untersucht, sodass der Grund für die hohe Nachweisrate nicht in der Diagnose der Patienten zu vermuten ist. Ursächlich könnte der geringere

sampling error sein: In verschiedenen Studien wurde gezeigt, dass CAMs auch in Abwesenheit von Infiltraten nachweisbar sind (Noutsias et al. 1999, Wojnicz et al. 2001, Noutsias et al. 2002b). In den Studien 5, 6, 19, 23 und 30 wurden Infiltrate und CAMs untersucht, das auf den Infiltraten basierende diagnostische Kriterium aber als vorrangig beschrieben. In jeder dieser Studien wurde eine intramyokardiale Entzündung mithilfe der CAMs häufiger diagnostiziert als anhand der Infiltrate. Unter Berücksichtigung dieser Werte hätte man mit noch deutlicheren Unterschieden zwischen den Nachweisraten der auf CAMs bzw. Infiltraten basierenden Kriterien rechnen müssen.

Die Bedeutung der auf CAMs basierenden Diagnosekriterien ist im vergangenen Jahrzehnt zurückgegangen: Die letzte Studie, in der die Diagnose allein auf einem solchen Kriterium – und nicht auf dem Nachweis von Infiltraten – beruhte, ist die von Noutsias et al. (2003a). Dies könnte darin begründet sein, dass die Einschätzung der Expressionsintensität der CAMs zumeist semiquantitativ erfolgt, was mit einer eingeschränkten Reproduzierbarkeit sowie Vergleichbarkeit der Ergebnisse einhergeht. Dieses Problem könnte mit einem System zur digitalen Bildanalyse, das eine automatische Quantifizierung der Expressionsintensität ermöglicht, umgangen werden (Noutsias et al. 2002b). Die Etablierung eines solchen Systems ist wie auch die Untersuchung der EMBs auf verschiedene CAMs mit einem gewissen Aufwand verbunden. Zudem ist die Verfügbarkeit von gegen endotheliale CAMs gerichteten Antikörpern, die sich für Paraffinpräparate eignen, beschränkt.

Die Bedeutsamkeit der auf dem Nachweis von CAMs basierenden immunhistologischen Diagnostik wird jedoch durch die randomisierte Studie von Wojnicz et al. (2001) zur Immunsuppression bei Patienten mit DCMi unterstrichen: Die Diagnose beruhte allein auf dem Nachweis von CAMs, konkret den HLA-Molekülen. Es konnte ein signifikant positiver Therapieeffekt nachgewiesen werden.

Zusammenfassend kann anhand der aktuellen Datenlage keines der Diagnosekriterien als einheitlicher Standard empfohlen werden. Dies ist u. a. darin begründet, dass die Ergebnisse der Studien zur prognostischen Bedeutung der Immunhistologie auf unterschiedlichen Diagnosekriterien basieren: Im Hinblick auf die Selektion von Patienten, die von einer immunmodulatorischen Therapie profitieren, konnte eine prognostische Bedeutung der Immunhistologie in der *TIMIC*-Studie (Frustaci et al. 2009) für Kriterium 12 und in der Studie von Wojnicz et al. (2001) für Kriterium 13 (CAMs) nachgewiesen werden.

Kindermann et al. (2008) zeigten, dass eine mittels Kriterium 10 diagnostizierte intramyokardiale Entzündung mit einer schlechteren Prognose einhergeht.

Trotz Belegen für die klinische Relevanz der immunhistologischen Untersuchung von EMBs auf das Vorliegen einer Entzündungsreaktion ist eine prospektive, multizentrische Studie noch ausstehend. Eine derartige Studie könnte auch als Grundlage für eine Vereinheitlichung der immunhistologischen Diagnostik dienen. In Anbetracht der Studie von Nielsen et al. (2014) könnte bspw. ein Diagnosekriterium gewählt werden, das auf dem Nachweis von Lymphozyten mit einem Grenzwert im Bereich von 11–16 CD3+ Lymphozyten/mm² beruht. Zusätzlich sollten mehrere CAMs untersucht werden, um auch die Fälle zu erfassen, die sonst bei der auf dem Nachweis von Infiltraten basierenden Diagnostik u. a. infolge eines *sampling error* nicht erkannt würden (Noutsias et al. 1999, Noutsias et al. 2004).

Darüber hinaus könnte die Auswertung der immunhistologisch angefärbten Präparate durch die Verwendung eines Systems zur automatischen, digitalen Bildanalyse optimiert werden (Noutsias et al. 2002b). Alternativ könnte eine personell aufwändigere Methode genutzt werden, mit welcher durch eine Software systematisch die zu evaluierenden Bereiche der mikroskopischen Präparate ausgewählt werden, die Quantifizierung aber manuell erfolgt. Auch auf diesem Weg werden hoch reproduzierbare Ergebnisse erzielt (Nielsen et al. 2014). Außerdem besteht die Möglichkeit, klinische Parameter in die Entscheidung über die Relevanz einer vorliegenden intramyokardialen Entzündung einzubeziehen: Dafür wurde im rechtsmedizinischen Bereich ein einfach anzuwendendes Scoring-System entwickelt, das anhand von klinischen und histologischen Parametern bei der Unterscheidung zwischen tödlicher und inzidenteller Myokarditis hilfreiche Informationen liefert (Casali et al. 2012). Allerdings ist zu beachten, dass die für die Evaluierung benötigten großen Gewebeproben zwar im Rahmen einer Autopsie, aber nicht mittels EMB gewonnen werden können; deshalb ist die Anwendbarkeit des genannten Scoring-Systems in diesem Punkt limitiert.

5.1.3.3 Nachweisraten nach Forschungsgruppe

Die Studien dieser Metaanalyse wurden von 17 verschiedenen Forschungsgruppen durchgeführt. Dabei wurden 79,7 % aller Patienten von folgenden drei Gruppen untersucht (Nummer der Forschungsgruppe [vgl. Kap. 4.2.4.3]: Erst-/Letztautor – Nachweisrate [95 %-KI]):

- 1: Noutsias, Kühl, Schultheiss – 55,4 % (49,9–60,8 %)
- 2: Kandolf – 57,0 % (50,3–63,4 %)
- 15: Chimenti – 48,9 % (32,5–65,5 %)

Zwischen diesen drei Gruppen gab es in der Nachweishäufigkeit einer intramyokardialen Entzündung keine statistisch signifikanten Unterschiede (1 vs. 2: $p = 0,7255$; 1 vs. 15: $p = 0,4746$; 2 vs. 15: $p = 0,3868$). Dies konnte in Anbetracht der zwischen den Institutionen z. T. differierenden Methodik nicht unbedingt erwartet werden. Es spricht dafür, dass durch die immunhistologische Diagnostik in allen Forschungsgruppen prinzipiell derselbe Sachverhalt erfasst wird. Dies ist im Hinblick auf eine mögliche Standardisierung der immunhistologischen Diagnostik bei DCMi positiv einzuschätzen.

Auffällig ist, dass die drei o. g. Forschungsgruppen alle aus europäischen Ländern stammen. Dies erklärt sich durch den in Kapitel 1.3.2.1 geschilderten Umstand, dass es im nordamerikanischen Raum nach den negativen Ergebnissen des *Myocarditis-Treatment-Trial* (Mason et al. 1995) zu einer Restriktion diagnostischer EMBs kam (Veinot 2002).

5.1.3.4 Nachweisraten nach Zeitpunkt der Veröffentlichung der Studien

Eine intramyokardiale Entzündung wurde

- im Zeitraum 1989–2004 in 50,4 % (95 %-KI: 44,3–56,5 %) und
- im Zeitraum 2005–2014 in 51,7 % (95 %-KI: 46,6–56,8 %) der Fälle

nachgewiesen. Die beiden Werte unterschieden sich nicht signifikant voneinander ($p = 0,7526$). Dies spricht dafür, dass es seit der Entwicklung der immunhistologischen Technik keine Veränderungen in der Methodik gab, die zu einer systematischen Beeinflussung der Ergebnisse geführt hätten. Eine Kombination der aktuellen Studien mit den älteren ist demnach legitim.

Dass 73,8 % aller Patienten in den Studien der Jahre 2005–2014 untersucht wurden und die Anzahl an Studien pro Jahr tendenziell gestiegen ist (vgl. Abb. 14), unterstreicht die Aktualität und zunehmende Wichtigkeit der immunhistologischen Untersuchung von EMBs.

5.1.3.5 Interaktion zwischen den Untergruppen nach klinischer Diagnose und Diagnosekriterium

Im Rahmen der Analyse einzelner Untergruppen wurde auch geprüft, welchen Einfluss die klinisch am relevantesten erscheinende Kombination von Diagnose und Diagnosekriterium auf die durchschnittliche Nachweisrate einer intramyokardialen Entzündung hat. Dabei zeigte sich, dass unter Verwendung der Diagnosekriterien die Diagnose nicht signifikant zur Erklärung der Unterschiede zwischen den Studienergebnissen beiträgt ($p < 0,0002$ für die Diagnosekriterien bzw. $p = 0,4825$ für die Diagnose).

Die Spezifität der klinischen Symptomatik ist in Bezug auf das immunhistologische Ergebnis demnach kleiner als die Unterschiede, die durch methodische Aspekte – die verschiedenen Diagnosekriterien – bedingt werden. Dies kann durch die ähnliche Symptomatik von Myokarditis und DCM sowie den geringen Unterschied in der Häufigkeit einer intramyokardialen Entzündung erklärt werden (vgl. Kap. 5.1.3.1). Zudem gab es nur drei Gruppen mit Diagnosen, von denen eine die beiden anderen enthielt. Die 13 verschiedenen Diagnosekriterien können Unterschiede hingegen allein aufgrund ihrer Anzahl präziser erklären.

5.1.3.6 Heterogenität in einzelnen Untergruppen

Die zwischen den Studienergebnissen bestehende Heterogenität kann zum Teil durch Bildung von Untergruppen erklärt werden (s. o.). Um zu überprüfen, welches Ausmaß an Heterogenität zwischen den Studien innerhalb dieser Untergruppen besteht, wurden auch für diese die Werte I^2 und τ^2 bestimmt. Sie sind in Tabelle 11 aufgeführt. Wie darin ersichtlich ist, besteht in allen Untergruppen ein hohes Maß an Heterogenität. Deren Ursachen müssen demzufolge hauptsächlich in den methodischen Unterschieden zwischen den Studien vermutet werden, die in Kapitel 5.1.2.1 besprochen wurden. Einzig die Ergebnisse der Studien in Forschungsgruppe 15 sind nicht heterogen, was v. a. der geringen Anzahl von zwei eingeschlossenen Untersuchungen zuzuschreiben ist.

Tabelle 11: Heterogenität in ausgewählten Untergruppen

| Untergruppe | I^2 (95 %-KI) | τ^2 |
|---------------------------------------|----------------------|----------|
| Diagnose | | |
| Myokarditis | 78,9 % (67,6–86,2 %) | 0,1617 |
| DCM | 87,0 % (83,2–90,0 %) | 0,3084 |
| Myokarditis oder DCM | 89,2 % (75,0–95,3 %) | 0,0462 |
| Diagnosekriterium | | |
| 1 | 82,0 % (72,3–88,3 %) | 0,1810 |
| 10 | 84,1 % (75,8–89,5 %) | 0,1745 |
| 12 | 75,6 % (45,0–89,2 %) | 0,0443 |
| 13 | 87,8 % (75,8–93,8 %) | 0,2684 |
| Forschungsgruppe | | |
| 1 | 88,6 % (84,1–91,8 %) | 0,3148 |
| 2 | 86,0 % (78,4–90,9 %) | 0,1873 |
| 15 | 0 % | 0 |
| Zeitpunkt der Veröffentlichung | | |
| 1989–2004 | 88,2 % (83,8–91,4 %) | 0,3007 |
| 2005–2014 | 84,6 % (79,6–88,4 %) | 0,1357 |

Legende: In allen Untergruppen zeigt sich ein hohes Maß an Heterogenität zwischen den Ergebnissen der zugehörigen Studien. Einzig die Ergebnisse der beiden Publikationen in Forschungsgruppe 15 sind nicht heterogen. KI = Konfidenzintervall, DCM = dilatative Kardiomyopathie.

5.2 Diskussion zum Vergleich des immunhistologischen mit dem histologischen Nachweis einer intramyokardialen Entzündung

In 30 Studien dieser Metaanalyse wurde bei 3274 Patienten (31,2 % aller Patienten) neben der immunhistologischen auch eine histologische Untersuchung der EMBs unter Anwendung der Dallas-Kriterien vorgenommen. Eine Myokarditis wurde histologisch in 13,59 % (95 %-KI: 11,29–16,28 %) der Fälle diagnostiziert.

5.2.1 Methodik

Auch zwischen den histologischen Ergebnissen bestand ein hohes Maß an Heterogenität ($I^2 = 93,1$ % [95 %-KI: 91,2–94,6 %], $\tau^2 = 1,481$). Neben den methodischen Schwächen der Histologie (s. u.) könnten auch die für die Immunhistologie besprochenen Aspekte wie uneinheitliche Selektion der Patienten oder verschiedene Schnittdicke der Präparate zu den differierenden Nachweisraten geführt haben (vgl. Kap. 5.1.2.1).

Das o. g. Ergebnis wurde in *SAS* nach einem gemischten Modell berechnet. Bei Verwendung der Modelle mit festem bzw. zufälligen Effekten ergaben sich Nachweisraten von 21,6 % (95 %-KI: 19,73–23,61 %) bzw. 8,04 % (95 %-KI: 5,08–12,5 %; Programm *R*,

Paket *meta*). Die Ergebnisunterschiede zwischen diesen beiden Modellen erklären sich dadurch, dass einige große Studien mit hoher Nachweisrate (z. B. die Studien 35, 45 und 50) im Modell mit festem Effekt im Vergleich zum Modell mit zufälligen Effekten einen überproportional großen Anteil am Endergebnis haben. Wie bereits in Kapitel 5.1.2.2 ausgeführt, sollte in der vorliegenden Metaanalyse eher das Modell mit zufälligen bzw. gemischten Effekten berücksichtigt werden. Die damit ermittelten Ergebnisse sind in einer vergleichbaren Größenordnung und sprechen für die Validität der statistischen Methode.

5.2.2 Metaanalyse der histologischen Ergebnisse und Vergleich mit der Immunhistologie

Das ermittelte Ergebnis deckt sich mit den Resultaten einzelner großer Studien: Eine Myokarditis wurde bei Patienten mit ebendieser Verdachtsdiagnose im *Myocarditis-Treatment-Trial* (Mason et al. 1995) in 9,6 % der Fälle nachgewiesen, und bei Patienten mit der Verdachtsdiagnose DCM in 9 bzw. 12 % der Fälle (Felker et al. 2000b, Kasper et al. 1994). Die in dieser Metaanalyse untersuchte Kohorte kann damit als repräsentativ gelten. Beim Vergleich des immunhistologischen mit dem histologischen Nachweis einer Myokarditis ergab sich eine *odds ratio* von 6,58 (95 %-KI: 5,76–7,52). Eine intramyokardiale Entzündung wird demnach immunhistologisch signifikant häufiger nachgewiesen als histologisch ($p < 0,0001$). In diesen Vergleich gingen alle 61 Studien für die Immunhistologie und die 30 Studien für die Histologie ein, in denen zusätzlich zur immunhistologischen eine histologische Untersuchung durchgeführt wurde. Um auszuschließen, dass die höhere Nachweisrate der Immunhistologie v. a. auf den Ergebnissen der Studien ohne Histologie beruht, wurde die Nachweisrate der Immunhistologie ausschließlich aus den 30 Studien berechnet, aus denen auch der Wert für die Histologie bestimmt wurde (Programm *R*, Paket *meta*): Es ergab sich nach dem Modell mit zufälligen Effekten eine mittlere Nachweisrate von 45,62 % (95 %-KI: 40,93–50,39 %; alle Studien: 50,76 % [95 %-KI: 47,74–53,77 %]). Da sich beide Ergebnisse nicht maßgeblich unterscheiden und deutlich über dem der Histologie liegen, ist davon auszugehen, dass die Einbeziehung aller Studien in den Vergleich zu keiner relevanten Verzerrung führt.

Die signifikant höhere Wahrscheinlichkeit, eine intramyokardiale Entzündung immunhistologisch zu diagnostizieren, lässt sich zum einen mit der geringeren *interobserver-*

Variabilität der Immunhistologie (Noutsias et al. 2004, Wojnicz et al. 1998) im Vergleich zur Histologie erklären (Shanes et al. 1987, Mason et al. 1995). Zum anderen ist die Immunhistologie insbesondere beim Nachweis endothelialer CAMs durch einen geringeren *sampling error* charakterisiert (Noutsias et al. 1999, Wojnicz et al. 2001, Noutsias et al. 2004). Ein *sampling error* ist dennoch nicht gänzlich auszuschließen, da mittels EMBs nie das gesamte Herz untersucht werden kann. Zwar gilt die EMB-Entnahme und -Untersuchung in der Diagnostik der Myokarditis als Goldstandard, allerdings ist davon auszugehen, dass nicht alle Krankheitsfälle erfasst werden. Zum *sampling error* der Immunhistologie existieren bislang keine systematischen Untersuchungen. Als zusätzliche oder alternative Diagnostik könnte zukünftig die CMR weiter an Bedeutung gewinnen, mit der das gesamte Myokard nichtinvasiv untersucht wird (vgl. Kap. 5.3).

Weitere Vorteile der Immunhistologie bestehen in der exakten Quantifizierung, phänotypischen Charakterisierung und Möglichkeit zur automatischen Quantifizierung von Infiltraten und CAMs (Noutsias et al. 2004, Noutsias et al. 2002b). Zuletzt konnte für die Immunhistologie im Gegensatz zur Histologie auch eine prognostische Bedeutung nachgewiesen werden (vgl. Kap. 1.3.3; Wojnicz et al. 2001, Frustaci et al. 2009, Kindermann et al. 2008, Grogan et al. 1995, Mason et al. 1995).

Zusammenfassend kann die Schlussfolgerung von Baughman (2006), der den „Tod der Dallas-Kriterien“ postulierte, aufgrund der erläuterten Vorteile der Immunhistologie und der höheren Detektionsrate einer intramyokardialen Entzündung unterstützt werden.

5.3 Diskussion zum Vergleich des immunhistologischen Nachweises einer intramyokardialen Entzündung mit der CMR-Diagnostik

Die immunhistologische Diagnostik wurde in 13 Studien bei 1185 Patienten (11,3 % aller Patienten) mit der CMR verglichen. Für die CMR wurden eine Sensitivität von 69 % (95 %-KI: 58–79 %) und eine Spezifität von 73 % (95 %-KI: 59–84 %) zur Detektion einer intramyokardialen Entzündung in Bezug auf die Immunhistologie als Goldstandard berechnet.

5.3.1 Methodik

Die Ergebnisse der CMR-Untersuchungen zeigten mit einem I^2 von 95 % (95 %-KI: 90–99 %) ein hohes Maß an Heterogenität. Zur Erklärung kommen neben den für die EMB-Diagnostik erörterten Gründen – uneinheitliche Selektion der Patienten, mehrere Diagnosen – v. a. die verschiedenen CMR-Kriterien in Betracht, nach denen über das Vorhandensein einer intramyokardialen Entzündung entschieden wurde. Selbst bei identischem Diagnosekriterium bestanden z. T. Unterschiede in den MRT-Sequenzen und der Schnittdicke der erhaltenen Bilder. Auch die applizierte Kontrastmitteldosis könnte die Ergebnisse beeinflusst haben: In drei Studien wurde die doppelte Dosierung im Vergleich zu den restlichen Studien verwendet. Zuletzt sind auch Unterschiede zwischen den Untersuchern in der Auswertung der erhaltenen Bilder – insbesondere bei qualitativen und semi-quantitativen Analysen (Esposito et al. 2016) – als Ursache für die differierenden Ergebnisse nicht auszuschließen.

5.3.2 Vergleich von Immunhistologie und CMR

Aus allen Werten für Sensitivität und Spezifität der CMR in Bezug auf die Immunhistologie wurde eine ROC-Kurve unter der Annahme berechnet, dass alle Studien dasselbe diagnostische Verfahren mit jeweils unterschiedlichem Grenzwert verwenden (vgl. Abb. 16). Die Fläche unter einer solchen Kurve (AUC) kann prinzipiell Werte zwischen 0 und 1 annehmen. Bei einem optimalen diagnostischen Verfahren würde sich ein Wert von 1 ergeben, ein Wert von 0,5 würde bedeuten, dass die Hälfte der Gesunden und der Kranken ein positives und die andere ein negatives Testresultat erhält. Ein diagnostisches Verfahren sollte demnach einen Wert über 0,5 und möglichst nahe an 1 haben (van Erkel und Pattynama 1998). Im vorliegenden Fall wurde eine AUC von 0,77 (95 %-KI: 0,73–0,81) berechnet. Die CMR ist somit als mäßig geeignetes Verfahren zur Detektion einer intramyokardialen Entzündung anzusehen. Am Punkt der bestmöglichen Kombination von Sensitivität und Spezifität betrugen diese 69 bzw. 73 %.

Während Sensitivität und Spezifität beschreiben, mit welcher Wahrscheinlichkeit Kranke bzw. Gesunde durch einen Test identifiziert werden, lassen sich mit den Wahrscheinlichkeitsverhältnissen (*likelihood ratios*) Aussagen über die Bedeutung eines positiven bzw. negativen Testresultats hinsichtlich der Wahrscheinlichkeit des Vorliegens einer Krankheit treffen (McGee 2002). Das positive Wahrscheinlichkeitsverhältnis betrug in dieser

Metaanalyse 2,6 (95 %-KI: 1,6–4,3), das negative 0,42 (95 %-KI: 0,28–0,62). Das bedeutet, dass die Wahrscheinlichkeit für ein positives Testresultat bei einem Kranken 2,6fach höher ist als bei einem Gesunden und ein negatives Ergebnis bei einem Kranken mit der 0,42fachen Wahrscheinlichkeit eines negativen Resultats bei einem Gesunden auftritt. Einer allgemeinen Interpretation von Jaeschke et al. (1994) folgend, verändert sich die Wahrscheinlichkeit für das Vorliegen einer intramyokardialen Entzündung durch das Ergebnis der CMR-Diagnostik in nur geringem Ausmaß.

Nach den vorherigen Ausführungen scheint die CMR nur bedingt geeignet zu sein, um eine intramyokardiale Entzündung zu diagnostizieren. Dabei müssen jedoch folgende Punkte beachtet werden:

(1) Die verwendeten CMR-Kriterien unterscheiden sich voneinander: In sechs Studien basierte die Diagnose auf den *Lake-Louise*-Kriterien (Friedrich et al. 2009), in sieben auf dem Nachweis eines LGE. Nach dem oben beschriebenen Modell wird jedoch angenommen, dass alle Studien dasselbe diagnostische Verfahren mit jeweils unterschiedlichem Grenzwert nutzen.

In einer aktuellen Übersichtsarbeit wurden die Ergebnisse von neun Studien zusammengefasst, in denen die *Lake-Louise*-Kriterien bei klinischem Verdacht auf Myokarditis verwendet wurden (Esposito et al. 2016). Dabei ergaben sich eine im Vergleich zu dieser Metaanalyse höhere Sensitivität von 77 % und eine Spezifität von 81 %. Für das LGE alleine betrugen diese Werte 59 bzw. 85 %. Allerdings muss angemerkt werden, dass die CMR in fünf der neun Studien an der Koronarangiographie bzw. klinischen Parametern als Referenz gemessen wurde; beide sind zur Diagnose einer Myokarditis ungeeignet (vgl. Kap. 1.1.4).

(2) Die CMR-Kriterien basieren auf dem Nachweis eines myokardialen Ödems, einer frühen und einer späten Kontrastmittelanreicherung. Während die ersten beiden Punkte eine Reaktion auf die myokardiale Entzündungsreaktion darstellen, ist die späte Kontrastmittelanreicherung ein Zeichen irreversibler Veränderungen wie Nekrose oder Fibrose – Diagnosekriterien, die nur darauf beruhen, erfassen damit nicht die eigentliche Entzündungsreaktion, sondern ihre Folgen. Dagegen werden mit immunhistologischen Methoden infiltrierende Zellen oder CAMs nachgewiesen. Zwar existieren pathophysiologische Verbindungen zwischen den von Immunhistologie bzw. CMR nachgewiesenen Struktu-

ren oder Prozessen, allerdings sind sie nicht identisch. Dies spiegelt sich auch morphologisch wider, wie in der Studie von Yilmaz et al. (2010) gezeigt wurde: Hier konnte keine Korrelation zwischen Regionen des Myokards mit Kontrastmittelanreicherung und positiven EMB-Befunden hergestellt werden. Die Zielstrukturen der beiden diagnostischen Verfahren unterscheiden sich auch anatomisch: Während das LGE bei Myokarditis meist subepikardial auftritt, repräsentieren EMBs nur die inneren 1–2 mm des Myokards. Andernfalls würde bei linksventrikulären Biopsien die Gefahr einer Perforation mit nachfolgender Perikardtamponade bestehen; rechtsventrikuläre Biopsien erfolgen aus dem interventrikulären Septum, welches fern der subepikardialen Bereiche des Myokards ist. Einzig ein in diesem Bereich auftretendes LGE – wie ebenfalls für die Myokarditis beschrieben – wäre mittels EMB hypothetisch erfassbar (Friedrich et al. 2009, Dominguez et al. 2016).

(3) Die Immunhistologie ist kein diagnostischer Goldstandard in dem Sinne wie es bspw. die Koronarangiographie in der Diagnostik der koronaren Herzkrankheit ist. So beruhen vermeintlich falsch positive CMR-Befunde möglicherweise auf einer falsch negativen immunhistologischen Untersuchung aufgrund eines *sampling error*. Dies könnte zur Erklärung der ermittelten Spezifität von 73 % beitragen. Hingegen kann die Sensitivität von 69 % dadurch nicht erklärt werden. Ein negativer CMR-Befund kann somit eine Myokarditis nicht zuverlässig ausschließen (Esposito et al. 2016).

Zusammenfassend muss die Auswertung der CMR-Untersuchungen in Bezug auf die Immunhistologie als Goldstandard kritisch betrachtet werden, weil

- verschiedene CMR-Kriterien gemeinsam ausgewertet wurden (1),
- CMR und Immunhistologie verschiedene pathophysiologische Aspekte einer intramyokardialen Entzündungsreaktion erfassen (2) und
- die Immunhistologie kein Goldstandard im klassischen Sinne ist (3).

Zukünftige Studien sollten als Ziel nicht den Vergleich der CMR mit der Immunhistologie anstreben, sondern die prognostische Bedeutung der Methode hinsichtlich des Überlebens und insbesondere des Ansprechens auf kausale Therapieverfahren eruieren. So wurde bereits gezeigt, dass das Vorhandensein eines LGE bei Patienten mit bioptisch nachgewiesener viraler Myokarditis bzw. bei Patienten, bei denen die Genome von Parvovirus B19 oder humanem Herpesvirus Typ 6 im Myokard nachweisbar waren, mit einer

schlechteren Prognose assoziiert ist (Grun et al. 2012, Greulich et al. 2016, Mahrholdt et al. 2006). Ein unauffälliger CMR-Befund ist bei klinischem Verdacht auf Myokarditis mit einer signifikant besseren Prognose verbunden: Die Mortalität gleich der der herzgesunden Normalbevölkerung (Schumm et al. 2014).

Weiterhin empfiehlt sich die konsequente Verwendung der etablierten *Lake-Louise*-Kriterien für eine bessere Vergleichbarkeit der Studienergebnisse (Friedrich et al. 2009). Zukünftig könnten neuere CMR-Techniken wie das so genannte *mapping* standardmäßig eingesetzt werden: Damit könnte die qualitative bzw. semiquantitative Auswertung nach den *Lake-Louise*-Kriterien durch eine quantitative Analyse ersetzt werden (Esposito et al. 2016). Außerdem könnte die CMR-Diagnostik durch den Einbezug klinischer Parameter optimiert werden: Es wurde gezeigt, dass die Sensitivität der CMR in Abhängigkeit von der klinischen Präsentation schwankt; bspw. ist sie am höchsten, wenn die Symptomatik der eines akuten Myokardinfarkts ähnelt (Francone et al. 2014).

Die CMR kann die Untersuchung von EMBs in der Diagnostik der Myokarditis nach derzeitigem Stand nicht ersetzen. Dies ist bereits darin begründet, dass mittels CMR zwar eine Entzündung diagnostiziert und lokalisiert, aber nicht ihre Ätiologie – infektiös vs. autoimmun – bestimmt werden kann (Caforio 2013), von der wiederum das Ansprechen auf kausale Therapieverfahren abhängt (Frustaci et al. 2009). Allerdings sollten aufgrund des großen Vorteils der CMR als nichtinvasive Methode weiterhin Versuche unternommen werden, die EMB-Diagnostik zumindest in ausgewählten Fällen – bspw. bei leichtem Verlauf der Erkrankung (Friedrich et al. 2009) – zu ersetzen. Zuletzt sollten die beiden Methoden nicht ausschließlich als konkurrierend betrachtet werden: Bei komplementärer Anwendung können mitunter bessere Resultate erzielt werden als durch eine Methode allein (Baccouche et al. 2009).

6 Schlussfolgerungen

Die vorliegende Metaanalyse über den immunhistologischen Nachweis einer intramyokardialen Entzündung bei Patienten mit klinischem Verdacht auf Myokarditis oder DCM ist die bislang umfassendste Zusammenstellung zu diesem Thema: In 61 Studien wurden die EMBs von insgesamt 10 491 Patienten untersucht und eine intramyokardiale Entzündung im Mittel in 50,9 % der Fälle nachgewiesen.

Bei Patienten mit klinischem Verdacht auf Myokarditis kann eine intramyokardiale Entzündung immunhistologisch in 58,6 % der Fälle und damit signifikant häufiger als bei Patienten mit der klinischen Symptomatik einer DCM (47,0 %) diagnostiziert werden. Für beide Erkrankungen gilt, dass bei klinischem Verdacht auf eines der Krankheitsbilder der vermutete Anteil von Patienten mit intramyokardialer Entzündung im Vergleich zu früheren, ausschließlich histologischen Untersuchungen nach oben korrigiert werden muss. Die Abklärung einer möglichen Myokarditis sollte demnach, wie von der ESC gefordert (Caforio et al. 2013), primär mittels EMB-Diagnostik erfolgen. Dies wird derzeit in der Praxis aufgrund von Sicherheitsbedenken, fehlender Vereinheitlichung der diagnostischen Verfahren sowie fraglicher therapeutischer Konsequenz eher selten umgesetzt (Dominguez et al. 2016, Veinot 2002). Entzündliche Prozesse im Myokard stellen einen Angriffspunkt für kausale Therapieverfahren dar, von denen ein relevanter Anteil der DCM-Patienten mit immunhistologisch nachgewiesener intramyokardialer Entzündung (DCMi) profitieren könnte. Multizentrische, randomisierte Untersuchungen zur Wirksamkeit kausaler Therapieverfahren bei DCMi sind derzeit noch ausstehend.

Zur Diagnosestellung einer intramyokardialen Entzündung wurden 13 verschiedene immunhistologische Kriterien verwendet, zwischen denen es z. T. signifikante Unterschiede in der Nachweishäufigkeit gab. Die in den einzelnen Kriterien definierten Zielstrukturen unterschieden sich voneinander. Für die wünschenswerte Standardisierung der immunhistologischen Diagnostik kann derzeit keines der Kriterien eindeutig empfohlen werden. Allerdings könnte das Wissen um die Vor- und Nachteile einzelner Kriterien bzw. der nachgewiesenen Zielstrukturen dafür genutzt werden, ein neues Diagnosekriterium zu definieren, dessen therapeutische und prognostische Relevanz in einer multizentrischen Studie untersucht werden sollte.

In diese Metaanalyse wurden die Studien von 17 verschiedenen Forschungsgruppen eingeschlossen. Die Ergebnisse der drei größten Forschungsgruppen unterschieden sich nicht signifikant voneinander. Dies kann hinsichtlich einer möglichen Standardisierung der immunhistologischen Diagnostik als positiv eingeschätzt werden.

In 30 Studien wurde neben der immunhistologischen auch eine histologische Untersuchung der EMBs nach den Dallas-Kriterien vorgenommen. Eine Myokarditis wurde damit in 13,6 % der Fälle diagnostiziert. Die Wahrscheinlichkeit, eine Myokarditis immunhistologisch nachzuweisen, ist signifikant höher. Neben der weiterhin notwendigen histologischen Untersuchung von EMBs zur Diagnosestellung bspw. einer Sarkoidose, Amyloidose oder Hämochromatose sollte zur Diagnosestellung einer intramyokardialen Entzündung nur noch die Immunhistologie verwendet werden. Diese zeichnet sich im Gegensatz zur Histologie zusätzlich durch ihre prognostische Relevanz aus.

Anhand der Daten aus 13 Studien konnte für die CMR eine Sensitivität von 69 % und eine Spezifität von 73 % für den Nachweis einer intramyokardialen Entzündung in Bezug auf die Immunhistologie als Goldstandard ermittelt werden. Ein negativer CMR-Befund schließt eine Myokarditis somit nicht aus, wohingegen vermeintlich falsch positive CMR-Befunde aufgrund eines möglichen *sampling error* der EMBs kritisch bewertet werden müssen. Da mit Immunhistologie und CMR verschiedene pathophysiologische Aspekte einer myokardialen Entzündung erfasst werden, sollte der Fokus zukünftiger Studien nicht auf dem Vergleich, sondern auf der Evaluierung der prognostischen Bedeutung der CMR insbesondere im Hinblick auf kausale Therapieverfahren liegen. Neue CMR-Techniken könnten eine intramyokardiale Entzündung verlässlicher erfassen und sollten Gegenstand weiterer Untersuchungen sein (Esposito et al. 2016). Aktuell empfiehlt sich die Verwendung der *Lake-Louise*-Kriterien (Friedrich et al. 2009). Die CMR kann die EMB-Diagnostik nach derzeitigem Stand nicht ersetzen, insbesondere, weil die möglichen Ätiologien einer intramyokardialen Entzündung mit der CMR nicht differenziert werden können. Im Vergleich zur EMB-Diagnostik ist die CMR ein noch verhältnismäßig junges Verfahren. Aufgrund ihres nichtinvasiven Charakters und möglicher technischer Weiterentwicklungen stellt sie auch zukünftig eine wichtige Option in der Diagnostik von Myokarditis und DCM dar.

7 Literatur- und Quellenverzeichnis

- Amabile N, Fraisse A, Bouvenot J, Chetaille P, Ovaert C. 2006. Outcome of acute fulminant myocarditis in children. *Heart*, 92 (9):1269-1273.
- Ameling S, Herda LR, Hammer E, Steil L, Teumer A, Trimpert C, Dorr M, Kroemer HK, Klingel K, Kandolf R, Volker U, Felix SB. 2013. Myocardial gene expression profiles and cardiodepressant autoantibodies predict response of patients with dilated cardiomyopathy to immunoadsorption therapy. *Eur Heart J*, 34 (9):666-675.
- Amoruso M, Muzzarelli S, Moccetti T, Pedrazzini G. 2015. Fulminant lymphocytic myocarditis mimicking ST-elevation myocardial infarction. *Eur Heart J*, 36 (33):2227.
- Andersson B, Caidahl K, Waagstein F. 1995. Idiopathic dilated cardiomyopathy among Swedish patients with congestive heart failure. *Eur Heart J*, 16 (1):53-60.
- Angelini A, Calzolari V, Calabrese F, Boffa GM, Maddalena F, Chioin R, Thiene G. 2000. Myocarditis mimicking acute myocardial infarction: role of endomyocardial biopsy in the differential diagnosis. *Heart*, 84 (3):245-250.
- Angelow A, Weitmann K, Schmidt M, Schwedler S, Vogt H, Havemann C, Staudt A, Felix SB, Stangl K, Klingel K, Kandolf R, Kuhl U, Lassner D, v Schlippenbach J, Schultheiss HP, Hoffmann W. 2009. The German Transregional Collaborative Research Centre 'Inflammatory Cardiomyopathy--Molecular Pathogenesis and Therapy'. Methods and baseline results from a 3-centre clinical study. *Cardiology*, 113 (3):222-230.
- Aretz HT, Billingham ME, Edwards WD, Factor SM, Fallon JT, Fenoglio JJ, Jr., Olsen EG, Schoen FJ. 1987. Myocarditis. A histopathologic definition and classification. *Am J Cardiovasc Pathol*, 1 (1):3-14.
- Baboonian C, Treasure T. 1997. Meta-analysis of the association of enteroviruses with human heart disease. *Heart*, 78 (6):539-543.
- Baccouche H, Mahrholdt H, Meinhardt G, Merher R, Voehringer M, Hill S, Klingel K, Kandolf R, Sechtem U, Yilmaz A. 2009. Diagnostic synergy of non-invasive cardiovascular magnetic resonance and invasive endomyocardial biopsy in troponin-positive patients without coronary artery disease. *Eur Heart J*, 30 (23):2869-2879.
- Badorff C, Lee GH, Knowlton KU. 2000. Enteroviral cardiomyopathy: bad news for the dystrophin-glycoprotein complex. *Herz*, 25 (3):227-232.
- Badorff C, Noutsias M, Kuhl U, Schultheiss HP. 1997. Cell-mediated cytotoxicity in hearts with dilated cardiomyopathy: correlation with interstitial fibrosis and foci of activated T lymphocytes. *J Am Coll Cardiol*, 29 (2):429-434.
- Basso C, Carturan E, Corrado D, Thiene G. 2007. Myocarditis and dilated cardiomyopathy in athletes: diagnosis, management, and recommendations for sport activity. *Cardiol Clin*, 25 (3):423-429, vi.

- Baughman KL. 2006. Diagnosis of myocarditis: death of Dallas criteria. *Circulation*, 113 (4):593-595.
- Bobbert P, Weikert U, Schmidt-Lucke C, Skurk C, Meyer A, Steffens D, Schultheiss HP, Rauch U. 2014. Platelet activation and thrombus formation relates to the presence of myocardial inflammation in patients with cardiomyopathy. *J Cardiol*, 63 (5):379-384.
- Böhm M, Hallek M, Schmiegeler W, Hrsg. 2009. *Innere Medizin*. Sechste Aufl. München: Urban & Fischer, 182.
- Bollen IA, Van Deel ED, Kuster DW, Van Der Velden J. 2014. Peripartum cardiomyopathy and dilated cardiomyopathy: different at heart. *Front Physiol*, 5:531.
- Borst O, Schaub M, Walker B, Sauter M, Muenzer P, Gramlich M, Mueller K, Geisler T, Lang F, Klingel K, Kandolf R, Bigalke B, Gawaz M, Zuern CS. 2014. CXCL16 is a novel diagnostic marker and predictor of mortality in inflammatory cardiomyopathy and heart failure. *Int J Cardiol*, 176 (3):896-903.
- Bultmann BD, Klingel K, Nabauer M, Wallwiener D, Kandolf R. 2005. High prevalence of viral genomes and inflammation in peripartum cardiomyopathy. *Am J Obstet Gynecol*, 193 (2):363-365.
- Bulut D, Scheeler M, Wichmann T, Borgel J, Miebach T, Mugge A. 2010. Effect of protein A immunoadsorption on T cell activation in patients with inflammatory dilated cardiomyopathy. *Clin Res Cardiol*, 99 (10):633-638.
- Burkett EL, Hersberger RE. 2005. Clinical and genetic issues in familial dilated cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol*, 45 (7):969-981.
- Caforio AL. 2013. Foreword to special issue on "Myocarditis". *Heart Fail Rev*, 18 (6):669-671.
- Caforio AL, Baboonian C, McKenna WJ. 1997. Postviral autoimmune heart disease--fact or fiction? *Eur Heart J*, 18 (7):1051-1055.
- Caforio AL, Calabrese F, Angelini A, Tona F, Vinci A, Bottaro S, Ramondo A, Carturan E, Iliceto S, Thiene G, Daliento L. 2007. A prospective study of biopsy-proven myocarditis: prognostic relevance of clinical and aetiopathogenetic features at diagnosis. *Eur Heart J*, 28 (11):1326-1333.
- Caforio AL, Pankuweit S, Arbustini E, Basso C, Gimeno-Blanes J, Felix SB, Fu M, Helio T, Heymans S, Jahns R, Klingel K, Linhart A, Maisch B, McKenna W, Mogensen J, Pinto YM, Ristic A, Schultheiss HP, Seggewiss H, Tavazzi L, Thiene G, Yilmaz A, Charron P, Elliott PM, European Society of Cardiology Working Group on M, Pericardial D. 2013. Current state of knowledge on aetiology, diagnosis, management, and therapy of myocarditis: a position statement of the European Society of Cardiology Working Group on Myocardial and Pericardial Diseases. *Eur Heart J*, 34 (33):2636-2648, 2648a-2648d.
- Casali MB, Lazzaro A, Gentile G, Blandino A, Ronchi E, Zoja R. 2012. Forensic grading of myocarditis: An experimental contribution to the distinction between lethal myocarditis and incidental myocarditis. *Forensic Sci Int*, 223 (1-3):78-86.

- Chimenti C, Frustaci A. 2013. Contribution and risks of left ventricular endomyocardial biopsy in patients with cardiomyopathies: a retrospective study over a 28-year period. *Circulation*, 128 (14):1531-1541.
- Chu H, Cole SR. 2006. Bivariate meta-analysis of sensitivity and specificity with sparse data: a generalized linear mixed model approach. *J Clin Epidemiol*, 59 (12):1331-1332; author reply 1332-1333.
- Codd MB, Sugrue DD, Gersh BJ, Melton LJ, 3rd. 1989. Epidemiology of idiopathic dilated and hypertrophic cardiomyopathy. A population-based study in Olmsted County, Minnesota, 1975-1984. *Circulation*, 80 (3):564-572.
- Cooper LT, Baughman KL, Feldman AM, Frustaci A, Jessup M, Kuhl U, Levine GN, Narula J, Starling RC, Towbin J. 2007. The role of endomyocardial biopsy in the management of cardiovascular disease: a scientific statement from the American Heart Association, the American College of Cardiology, and the European Society of Cardiology Endorsed by the Heart Failure Society of America and the Heart Failure Association of the European Society of Cardiology. *J Am Coll Cardiol*, 50 (19):1914-1931.
- Cooper LT, Jr., Keren A, Sliwa K, Matsumori A, Mensah GA. 2014. The global burden of myocarditis: part 1: a systematic literature review for the Global Burden of Diseases, Injuries, and Risk Factors 2010 study. *Glob Heart*, 9 (1):121-129.
- Cooper LT, Jr., Hare JM, Tazelaar HD, Edwards WD, Starling RC, Deng MC, Menon S, Mullen GM, Jaski B, Bailey KR, Cunningham MW, Dec GW. 2008. Usefulness of immunosuppression for giant cell myocarditis. *Am J Cardiol*, 102 (11):1535-1539.
- Cowburn PJ, Cleland JGF, Coats AJS, Komajda M. 1998. Risk stratification in chronic heart failure. *Eur Heart J*, 19 (5):696-710.
- D'Ambrosio A, Patti G, Manzoli A, Sinagra G, Di Lenarda A, Silvestri F, Di Sciascio G. 2001. The fate of acute myocarditis between spontaneous improvement and evolution to dilated cardiomyopathy: a review. *Heart*, 85 (5):499-504.
- da Costa BR, Juni P. 2014. Systematic reviews and meta-analyses of randomized trials: principles and pitfalls. *Eur Heart J*, 35 (47):3336-3345.
- Davidoff R, Palacios I, Southern J, Fallon JT, Newell J, Dec GW. 1991. Giant cell versus lymphocytic myocarditis. A comparison of their clinical features and long-term outcomes. *Circulation*, 83 (3):953-961.
- Dennert R, van Paassen P, Wolffs P, Bruggeman C, Velthuis S, Felix S, van Suylen RJ, Crijns HJ, Cohen Tervaert JW, Heymans S. 2012. Differences in virus prevalence and load in the hearts of patients with idiopathic dilated cardiomyopathy with and without immune-mediated inflammatory diseases. *Clin Vaccine Immunol*, 19 (8):1182-1187.
- Dennert R, Velthuis S, Schalla S, Eurlings L, van Suylen RJ, van Paassen P, Tervaert JW, Wolffs P, Goossens VJ, Bruggeman C, Waltenberger J, Crijns HJ, Heymans S. 2010. Intravenous immunoglobulin therapy for patients with idiopathic cardiomyopathy and endomyocardial biopsy-proven high PVB19 viral load. *Antivir Ther*, 15 (2):193-201.

- Deutsche Forschungsgemeinschaft. 2016. Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis [Internet]. URL: http://www.dfg.de/download/pdf/dfg_im_profil/reden_stellungnahmen/download/empfehlung_wiss_praxis_1310.pdf. Stand: 18.03.2016.
- Dominguez F, Kuhl U, Pieske B, Garcia-Pavia P, Tschope C. 2016. Update on Myocarditis and Inflammatory Cardiomyopathy: Reemergence of Endomyocardial Biopsy. *Rev Esp Cardiol (Engl Ed)*, 69 (2):178-187.
- Edwards WD, Holmes DR, Jr., Reeder GS. 1982. Diagnosis of active lymphocytic myocarditis by endomyocardial biopsy: quantitative criteria for light microscopy. *Mayo Clin Proc*, 57 (7):419-425.
- Elliott P, Andersson B, Arbustini E, Bilinska Z, Cecchi F, Charron P, Dubourg O, Kuhl U, Maisch B, McKenna WJ, Monserrat L, Pankuweit S, Rapezzi C, Seferovic P, Tavazzi L, Keren A. 2008. Classification of the cardiomyopathies: a position statement from the European Society Of Cardiology Working Group on Myocardial and Pericardial Diseases. *Eur Heart J*, 29 (2):270-276.
- Escher F, Lassner D, Kuhl U, Gross U, Westermann D, Poller W, Skurk C, Weitmann K, Hoffmann W, Tschope C, Schultheiss HP. 2014. Analysis of endomyocardial biopsies in suspected myocarditis-Diagnostic value of left versus right ventricular biopsy. *Int J Cardiol*, 177 (1):76-78.
- Esposito A, Francone M, Faletti R, Centonze M, Cademartiri F, Carbone I, De Rosa R, Di Cesare E, La Grutta L, Ligabue G, Lovato L, Maffei E, Marano R, Midiri M, Pontone G, Natale L, De Cobelli F. 2016. Lights and shadows of cardiac magnetic resonance imaging in acute myocarditis. *Insights Imaging*, 7 (1):99-110.
- Fabre A, Sheppard MN. 2006. Sudden adult death syndrome and other non-ischaemic causes of sudden cardiac death. *Heart*, 92 (3):316-320.
- Felix SB, Staudt A, Landsberger M, Grosse Y, Stangl V, Spielhagen T, Wallukat G, Wernecke KD, Baumann G, Stangl K. 2002. Removal of cardiodepressant antibodies in dilated cardiomyopathy by immunoadsorption. *J Am Coll Cardiol*, 39 (4):646-652.
- Felix SB, Staudt A, Dorffel WV, Stangl V, Merkel K, Pohl M, Docke WD, Morgera S, Neumayer HH, Wernecke KD, Wallukat G, Stangl K, Baumann G. 2000. Hemodynamic effects of immunoadsorption and subsequent immunoglobulin substitution in dilated cardiomyopathy: three-month results from a randomized study. *J Am Coll Cardiol*, 35 (6):1590-1598.
- Felker GM, Boehmer JP, Hruban RH, Hutchins GM, Kasper EK, Baughman KL, Hare JM. 2000a. Echocardiographic findings in fulminant and acute myocarditis. *J Am Coll Cardiol*, 36 (1):227-232.
- Felker GM, Thompson RE, Hare JM, Hruban RH, Clemetson DE, Howard DL, Baughman KL, Kasper EK. 2000b. Underlying causes and long-term survival in patients with initially unexplained cardiomyopathy. *N Engl J Med*, 342 (15):1077-1084.

- Francone M, Chimenti C, Galea N, Scopelliti F, Verardo R, Galea R, Carbone I, Catalano C, Fedele F, Frustaci A. 2014. CMR sensitivity varies with clinical presentation and extent of cell necrosis in biopsy-proven acute myocarditis. *JACC Cardiovasc Imaging*, 7 (3):254-263.
- Friedrich MG, Sechtem U, Schulz-Menger J, Holmvang G, Alakija P, Cooper LT, White JA, Abdel-Aty H, Gutberlet M, Prasad S, Aletras A, Laissy JP, Paterson I, Filipchuk NG, Kumar A, Pauschinger M, Liu P, International Consensus Group on Cardiovascular Magnetic Resonance in M. 2009. Cardiovascular magnetic resonance in myocarditis: A JACC White Paper. *J Am Coll Cardiol*, 53 (17):1475-1487.
- Frustaci A, Russo MA, Chimenti C. 2009. Randomized study on the efficacy of immunosuppressive therapy in patients with virus-negative inflammatory cardiomyopathy: the TIMIC study. *Eur Heart J*, 30 (16):1995-2002.
- Frustaci A, Chimenti C, Calabrese F, Pieroni M, Thiene G, Maseri A. 2003. Immunosuppressive therapy for active lymphocytic myocarditis: virological and immunologic profile of responders versus nonresponders. *Circulation*, 107 (6):857-863.
- Fujioka S, Kitaura Y, Ukimura A, Deguchi H, Kawamura K, Isomura T, Suma H, Shimizu A. 2000. Evaluation of viral infection in the myocardium of patients with idiopathic dilated cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol*, 36 (6):1920-1926.
- Gauntt CJ, Arizpe HM, Higdon AL, Wood HJ, Bowers DF, Rozek MM, Crawley R. 1995. Molecular mimicry, anti-coxsackievirus B3 neutralizing monoclonal antibodies, and myocarditis. *J Immunol*, 154 (6):2983-2995.
- Geerlings SE, Hoepelman AI. 1999. Immune dysfunction in patients with diabetes mellitus (DM). *FEMS Immunol Med Microbiol*, 26 (3-4):259-265.
- González J, Salgado F, Azzato F, Ambrosio G, Milei J. 2013. Endomyocardial Biopsy: A Clinical Research Tool and a Useful Diagnostic Method [Internet]. URL: <http://www.intechopen.com/books/diagnosis-and-treatment-of-myocarditis/endomyocardial-biopsy-a-clinical-research-tool-and-a-useful-diagnostic-method>. Stand: 25.02.2016.
- Gopal DM, Sam F. 2013. New and emerging biomarkers in left ventricular systolic dysfunction--insight into dilated cardiomyopathy. *J Cardiovasc Transl Res*, 6 (4):516-527.
- Greulich S, Kindermann I, Schumm J, Perne A, Birkmeier S, Grun S, Ong P, Schaufele T, Klingel K, Schneider S, Kandolf R, Bohm M, Sechtem U, Mahrholdt H. 2016. Predictors of outcome in patients with parvovirus B19 positive endomyocardial biopsy. *Clin Res Cardiol*, 105 (1):37-52.
- Grogan M, Redfield MM, Bailey KR, Reeder GS, Gersh BJ, Edwards WD, Rodeheffer RJ. 1995. Long-term outcome of patients with biopsy-proved myocarditis: comparison with idiopathic dilated cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol*, 26 (1):80-84.

- Grun S, Schumm J, Greulich S, Wagner A, Schneider S, Bruder O, Kispert EM, Hill S, Ong P, Klingel K, Kandolf R, Sechtem U, Mahrholdt H. 2012. Long-term follow-up of biopsy-proven viral myocarditis: predictors of mortality and incomplete recovery. *J Am Coll Cardiol*, 59 (18):1604-1615.
- Gullestad L, Aass H, Fjeld JG, Wikeby L, Andreassen AK, Ihlen H, Simonsen S, Kjekshus J, Nitter-Hauge S, Ueland T, Lien E, Froland SS, Aukrust P. 2001. Immunomodulating therapy with intravenous immunoglobulin in patients with chronic heart failure. *Circulation*, 103 (2):220-225.
- Gutberlet M, Spors B, Thoma T, Bertram H, Denecke T, Felix R, Noutsias M, Schultheiss HP, Kuhl U. 2008. Suspected chronic myocarditis at cardiac MR: diagnostic accuracy and association with immunohistologically detected inflammation and viral persistence. *Radiology*, 246 (2):401-409.
- Hare JM, Baughman KL. 2001. Fulminant and acute lymphocytic myocarditis: the prognostic value of clinicopathological classification. *Eur Heart J*, 22 (4):269-270.
- Hauck AJ, Kearney DL, Edwards WD. 1989. Evaluation of postmortem endomyocardial biopsy specimens from 38 patients with lymphocytic myocarditis: implications for role of sampling error. *Mayo Clin Proc*, 64 (10):1235-1245.
- Herda LR, Trimpert C, Nauke U, Landsberger M, Hummel A, Beug D, Kieback A, Dorr M, Empen K, Knebel F, Ewert R, Angelow A, Hoffmann W, Felix SB, Staudt A. 2010. Effects of immunoadsorption and subsequent immunoglobulin G substitution on cardiopulmonary exercise capacity in patients with dilated cardiomyopathy. *Am Heart J*, 159 (5):809-816.
- Hershberger RE, Cowan J, Morales A, Siegfried JD. 2009. Progress with genetic cardiomyopathies: screening, counseling, and testing in dilated, hypertrophic, and arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy. *Circ Heart Fail*, 2 (3):253-261.
- Herskowitz A, Ahmed-Ansari A, Neumann DA, Beschoner WE, Rose NR, Soule LM, Burek CL, Sell KW, Baughman KL. 1990. Induction of major histocompatibility complex antigens within the myocardium of patients with active myocarditis: a nonhistologic marker of myocarditis. *J Am Coll Cardiol*, 15 (3):624-632.
- Higgins JP, Thompson SG. 2002. Quantifying heterogeneity in a meta-analysis. *Stat Med*, 21 (11):1539-1558.
- Higgins JP, Green S. 2011. Strategies for addressing heterogeneity. In: Higgins JP, Green S, Hrsg. *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions*. Version 5.1.0: The Cochrane Collaboration [Internet]. URL: http://handbook.cochrane.org/chapter_9/9_5_3_strategies_for_addressing_heterogeneity.htm. Stand: 21.04.2016.
- Holzmann M, Nicko A, Kuhl U, Noutsias M, Poller W, Hoffmann W, Morguet A, Witzenbichler B, Tschope C, Schultheiss HP, Pauschinger M. 2008. Complication rate of right ventricular endomyocardial biopsy via the femoral approach: a retrospective and prospective study analyzing 3048 diagnostic procedures over an 11-year period. *Circulation*, 118 (17):1722-1728.

- Jadad AR, Moore RA, Carroll D, Jenkinson C, Reynolds DJ, Gavaghan DJ, McQuay HJ. 1996. Assessing the quality of reports of randomized clinical trials: is blinding necessary? *Control Clin Trials*, 17 (1):1-12.
- Jaeschke R, Guyatt GH, Sackett DL, et al. 1994. Users' guides to the medical literature: III. How to use an article about a diagnostic test B. What are the results and will they help me in caring for my patients? *JAMA*, 271 (9):703-707.
- Juni P, Witschi A, Bloch R, Egger M. 1999. The hazards of scoring the quality of clinical trials for meta-analysis. *JAMA*, 282 (11):1054-1060.
- Karjalainen J, Heikkilä J. 1999. Incidence of three presentations of acute myocarditis in young men in military service. A 20-year experience. *Eur Heart J*, 20 (15):1120-1125.
- Kasner M, Sinning D, Escher F, Lassner D, Kuhl U, Schultheiss HP, Tschope C. 2013. The utility of speckle tracking imaging in the diagnostic of acute myocarditis, as proven by endomyocardial biopsy. *Int J Cardiol*, 168 (3):3023-3024.
- Kasper EK, Agema WR, Hutchins GM, Deckers JW, Hare JM, Baughman KL. 1994. The causes of dilated cardiomyopathy: a clinicopathologic review of 673 consecutive patients. *J Am Coll Cardiol*, 23 (3):586-590.
- Kawai C. 1999. From myocarditis to cardiomyopathy: mechanisms of inflammation and cell death: learning from the past for the future. *Circulation*, 99 (8):1091-1100.
- Kim SY. 2012. Double Submission, Double Publication. *Korean J Fam Med*, 33 (2):69.
- Kindermann I, Kindermann M, Kandolf R, Klingel K, Bultmann B, Müller T, Lindinger A, Böhm M. 2008. Predictors of outcome in patients with suspected myocarditis. *Circulation*, 118 (6):639-648.
- Kindermann I, Barth C, Mahfoud F, Ukena C, Lenski M, Yilmaz A, Klingel K, Kandolf R, Sechtem U, Cooper LT, Böhm M. 2012. Update on myocarditis. *J Am Coll Cardiol*, 59 (9):779-792.
- Klein RM, Schwartzkopff B, Gabbert HE, Strauer BE. 2003. Diminished coronary reserve in patients with biopsy-proven inflammatory infiltrates. *Cardiology*, 100 (3):120-128.
- Klein RM, Breuer R, Mundhenke M, Schwartzkopff B, Strauer BE. 1998. Circulating adhesion molecules (cICAM-1, lcVCAM-1) in patients with suspected inflammatory heart muscle disease. *Z Kardiol*, 87 (2):84-93.
- Klein RM, Jiang H, Niederacher D, Adams O, Du M, Horlitz M, Schley P, Marx R, Lankisch MR, Brehm MU, Strauer BE, Gabbert HE, Scheffold T, Gulker H. 2004. Frequency and quantity of the parvovirus B19 genome in endomyocardial biopsies from patients with suspected myocarditis or idiopathic left ventricular dysfunction. *Z Kardiol*, 93 (4):300-309.
- Kolbeck PC, Steenbergen C, Wolfe JA, Sanfilippo F, Jennings RB. 1989. The correlation of mononuclear cell phenotype in endomyocardial biopsies with clinical history and cardiac dysfunction. *Am J Clin Pathol*, 91 (1):37-44.

- Krejci J, Hude P, Poloczko H, Zampachova V, Stepanova R, Freiburger T, Nemcova E, Spinarova L. 2016. Correlations of the changes in bioptic findings with echocardiographic, clinical and laboratory parameters in patients with inflammatory cardiomyopathy. *Heart Vessels*, 31 (3):416-426.
- Kubane M, Sramko M, Berenova D, Hulinska D, Hrbackova H, Maluskova J, Lodererova A, Malek I, Kautzner J. 2012. Detection of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in endomyocardial biopsy specimens in individuals with recent-onset dilated cardiomyopathy. *Eur J Heart Fail*, 14 (6):588-596.
- Kubane M, Sramko M, Maluskova J, Kautznerova D, Weichet J, Lupinek P, Vrbska J, Malek I, Kautzner J. 2013. Novel predictors of left ventricular reverse remodeling in individuals with recent-onset dilated cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol*, 61 (1):54-63.
- Kueth F, Lindner J, Matschke K, Wenzel JJ, Norja P, Ploetze K, Schaal S, Kamvissi V, Bornstein SR, Schwanebeck U, Modrow S. 2009. Prevalence of parvovirus B19 and human bocavirus DNA in the heart of patients with no evidence of dilated cardiomyopathy or myocarditis. *Clin Infect Dis*, 49 (11):1660-1666.
- Kuhl U, Noutsias M, Schultheiss HP. 1995. Immunohistochemistry in dilated cardiomyopathy. *Eur Heart J*, 16 Suppl O:100-106.
- Kuhl U, Pauschinger M, Schultheiss HP. 1997. Etiopathogenetic differentiation of inflammatory cardiomyopathy. Immunosuppression and immunomodulation. *Internist (Berl)*, 38 (6):590-601.
- Kuhl U, Seeberg B, Schultheiss HP, Strauer BE. 1994a. Immunohistological characterization of infiltrating lymphocytes in biopsies of patients with clinically suspected dilated cardiomyopathy. *Eur Heart J*, 15 Suppl C:62-67.
- Kuhl U, Noutsias M, Seeberg B, Schultheiss HP. 1996. Immunohistological evidence for a chronic intramyocardial inflammatory process in dilated cardiomyopathy. *Heart*, 75 (3):295-300.
- Kuhl U, Lauer B, Souvatzoglu M, Vosberg H, Schultheiss HP. 1998. Antimyosin scintigraphy and immunohistologic analysis of endomyocardial biopsy in patients with clinically suspected myocarditis--evidence of myocardial cell damage and inflammation in the absence of histologic signs of myocarditis. *J Am Coll Cardiol*, 32 (5):1371-1376.
- Kuhl U, Lassner D, von Schlippenbach J, Poller W, Schultheiss HP. 2012. Interferon-Beta improves survival in enterovirus-associated cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol*, 60 (14):1295-1296.
- Kuhl U, Noutsias M, Seeberg B, Schannwell M, Welp LB, Schultheiss HP. 1994b. Chronic inflammation in the myocardium of patients with clinically suspected dilated cardiomyopathy. *J Card Fail*, 1 (1):13-25.
- Kuhl U, Pauschinger M, Seeberg B, Lassner D, Noutsias M, Poller W, Schultheiss HP. 2005a. Viral persistence in the myocardium is associated with progressive cardiac dysfunction. *Circulation*, 112 (13):1965-1970.

- Kuhl U, Pauschinger M, Schwimmbeck PL, Seeberg B, Lober C, Noutsias M, Poller W, Schultheiss HP. 2003a. Interferon-beta treatment eliminates cardiotropic viruses and improves left ventricular function in patients with myocardial persistence of viral genomes and left ventricular dysfunction. *Circulation*, 107 (22):2793-2798.
- Kuhl U, Pauschinger M, Noutsias M, Seeberg B, Bock T, Lassner D, Poller W, Kandolf R, Schultheiss HP. 2005b. High prevalence of viral genomes and multiple viral infections in the myocardium of adults with "idiopathic" left ventricular dysfunction. *Circulation*, 111 (7):887-893.
- Kuhl U, Pauschinger M, Bock T, Klingel K, Schwimmbeck CP, Seeberg B, Krautwurm L, Poller W, Schultheiss HP, Kandolf R. 2003b. Parvovirus B19 infection mimicking acute myocardial infarction. *Circulation*, 108 (8):945-950.
- Kumar S, Stevenson WG, John RM. 2015. Arrhythmias in dilated cardiomyopathy. *Card Electrophysiol Clin*, 7 (2):221-233.
- Lauer B, Niederau C, Kuhl U, Schannwell M, Pauschinger M, Strauer BE, Schultheiss HP. 1997. Cardiac troponin T in patients with clinically suspected myocarditis. *J Am Coll Cardiol*, 30 (5):1354-1359.
- Leone O, Veinot JP, Angelini A, Baandrup UT, Basso C, Berry G, Bruneval P, Burke M, Butany J, Calabrese F, d'Amati G, Edwards WD, Fallon JT, Fishbein MC, Gallagher PJ, Halushka MK, McManus B, Pucci A, Rodriguez ER, Saffitz JE, Sheppard MN, Steenbergen C, Stone JR, Tan C, Thiene G, van der Wal AC, Winters GL. 2012. 2011 consensus statement on endomyocardial biopsy from the Association for European Cardiovascular Pathology and the Society for Cardiovascular Pathology. *Cardiovasc Pathol*, 21 (4):245-274.
- Leong TY, Cooper K, Leong AS. 2010. Immunohistology--past, present, and future. *Adv Anat Pathol*, 17 (6):404-418.
- Liberati A, Altman DG, Tetzlaff J, Mulrow C, Gotzsche PC, Ioannidis JP, Clarke M, Devereaux PJ, Kleijnen J, Moher D. 2009. The PRISMA statement for reporting systematic reviews and meta-analyses of studies that evaluate health care interventions: explanation and elaboration. *J Clin Epidemiol*, 62 (10):e1-34.
- Lieberman EB, Hutchins GM, Herskowitz A, Rose NR, Baughman KL. 1991. Clinicopathologic description of myocarditis. *J Am Coll Cardiol*, 18 (7):1617-1626.
- Lim JK, Glass WG, McDermott DH, Murphy PM. 2006. CCR5: no longer a "good for nothing" gene--chemokine control of West Nile virus infection. *Trends Immunol*, 27 (7):308-312.
- Linder J, Cassling RS, Rogler WC, Wilson JE, Markin RS, Sears TD, McManus BM. 1985. Immunohistochemical characterization of lymphocytes in uninflamed ventricular myocardium. Implications for myocarditis. *Arch Pathol Lab Med*, 109 (10):917-920.

- Lund LH, Edwards LB, Kucheryavaya AY, Benden C, Dipchand AI, Goldfarb S, Levvey BJ, Meiser B, Rossano JW, Yusef RD, Stehlik J. 2015. The Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: Thirty-second Official Adult Heart Transplantation Report--2015; Focus Theme: Early Graft Failure. *J Heart Lung Transplant*, 34 (10):1244-1254.
- Lurz P, Eitel I, Klieme B, Luecke C, de Waha S, Desch S, Fuernau G, Klingel K, Kandolf R, Grothoff M, Schuler G, Gutberlet M, Thiele H. 2014. The potential additional diagnostic value of assessing for pericardial effusion on cardiac magnetic resonance imaging in patients with suspected myocarditis. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging*, 15 (6):643-650.
- Lurz P, Eitel I, Adam J, Steiner J, Grothoff M, Desch S, Fuernau G, de Waha S, Sareban M, Luecke C, Klingel K, Kandolf R, Schuler G, Gutberlet M, Thiele H. 2012. Diagnostic performance of CMR imaging compared with EMB in patients with suspected myocarditis. *JACC Cardiovasc Imaging*, 5 (5):513-524.
- Mahfoud F, Ukena C, Kandolf R, Kindermann M, Bohm M, Kindermann I. 2012. Blood pressure and heart rate predict outcome in patients acutely admitted with suspected myocarditis without previous heart failure. *J Hypertens*, 30 (6):1217-1224.
- Mahfoud F, Gartner B, Kindermann M, Ukena C, Gadomski K, Klingel K, Kandolf R, Bohm M, Kindermann I. 2011. Virus serology in patients with suspected myocarditis: utility or futility? *Eur Heart J*, 32 (7):897-903.
- Mahon NG, Madden BP, Caforio AL, Elliott PM, Haven AJ, Keogh BE, Davies MJ, McKenna WJ. 2002. Immunohistologic evidence of myocardial disease in apparently healthy relatives of patients with dilated cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol*, 39 (3):455-462.
- Mahrholdt H, Sechtem U. 2016. Imaging procedures for myocarditis and cardiomyopathy. *Dtsch Med Wochenschr*, 141 (2):89-94.
- Mahrholdt H, Goedecke C, Wagner A, Meinhardt G, Athanasiadis A, Vogelsberg H, Fritz P, Klingel K, Kandolf R, Sechtem U. 2004. Cardiovascular magnetic resonance assessment of human myocarditis: a comparison to histology and molecular pathology. *Circulation*, 109 (10):1250-1258.
- Mahrholdt H, Wagner A, Deluigi CC, Kispert E, Hager S, Meinhardt G, Vogelsberg H, Fritz P, Dippon J, Bock CT, Klingel K, Kandolf R, Sechtem U. 2006. Presentation, patterns of myocardial damage, and clinical course of viral myocarditis. *Circulation*, 114 (15):1581-1590.
- Maisch B, Pankuweit S. 2012. Current treatment options in (peri)myocarditis and inflammatory cardiomyopathy. *Herz*, 37 (6):644-656.
- Maisch B, Camerini F, Schultheiss HP. 1995. Immunosuppressive therapy for myocarditis. *N Engl J Med*, 333 (25):1713; author reply 1714.

- Maisch B, Portig I, Ristic A, Hufnagel G, Pankuweit S. 2000. Definition of inflammatory cardiomyopathy (myocarditis): on the way to consensus. A status report. *Herz*, 25 (3):200-209.
- Maisch B, Funcker R, Alter P, Portig I, Pankuweit S. 2002. Dilated cardiomyopathy and myocarditis. Current diagnostic requirements and therapeutic possibilities. *Internist (Berl)*, 43 Suppl 1:S45-46, S49-65.
- Malik LH, Singh GD, Amsterdam EA. 2015. The Epidemiology, Clinical Manifestations, and Management of Chagas Heart Disease. *Clin Cardiol*, 38 (9):565-569.
- Malkiel S, Kuan AP, Diamond B. 1996. Autoimmunity in heart disease: mechanisms and genetic susceptibility. *Mol Med Today*, 2 (8):336-342.
- Mason JW, O'Connell JB, Herskowitz A, Rose NR, McManus BM, Billingham ME, Moon TE. 1995. A clinical trial of immunosuppressive therapy for myocarditis. The Myocarditis Treatment Trial Investigators. *N Engl J Med*, 333 (5):269-275.
- McCarthy RE, 3rd, Boehmer JP, Hruban RH, Hutchins GM, Kasper EK, Hare JM, Baughman KL. 2000. Long-term outcome of fulminant myocarditis as compared with acute (nonfulminant) myocarditis. *N Engl J Med*, 342 (10):690-695.
- McGee S. 2002. Simplifying Likelihood Ratios. *J Gen Intern Med*, 17 (8):647-650.
- McMurray JJ, Adamopoulos S, Anker SD, Auricchio A, Bohm M, Dickstein K, Falk V, Filippatos G, Fonseca C, Gomez-Sanchez MA, Jaarsma T, Kober L, Lip GY, Maggioni AP, Parkhomenko A, Pieske BM, Popescu BA, Ronnevik PK, Rutten FH, Schwitter J, Seferovic P, Stepinska J, Trindade PT, Voors AA, Zannad F, Zeiher A, Guidelines ESCCfP. 2012. ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2012: The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Acute and Chronic Heart Failure 2012 of the European Society of Cardiology. Developed in collaboration with the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. *Eur Heart J*, 33 (14):1787-1847.
- McNamara DM, Holubkov R, Starling RC, Dec GW, Loh E, Torre-Amione G, Gass A, Janosko K, Tokarczyk T, Kessler P, Mann DL, Feldman AM. 2001. Controlled trial of intravenous immune globulin in recent-onset dilated cardiomyopathy. *Circulation*, 103 (18):2254-2259.
- Mestroni L, Rocco C, Gregori D, Sinagra G, Di Lenarda A, Miocic S, Vatta M, Pinamonti B, Muntoni F, Caforio AL, McKenna WJ, Falaschi A, Giacca M, Camerini. 1999. Familial dilated cardiomyopathy: evidence for genetic and phenotypic heterogeneity. Heart Muscle Disease Study Group. *J Am Coll Cardiol*, 34 (1):181-190.
- Moher D, Cook DJ, Eastwood S, Olkin I, Rennie D, Stroup DF. 1999. Improving the quality of reports of meta-analyses of randomised controlled trials: the QUOROM statement. Quality of Reporting of Meta-analyses. *Lancet*, 354 (9193):1896-1900.
- Morgera T, Di Lenarda A, Dreaz L, Pinamonti B, Humar F, Bussani R, Silvestri F, Chersevani D, Camerini F. 1992. Electrocardiography of myocarditis revisited: clinical and prognostic significance of electrocardiographic changes. *Am Heart J*, 124 (2):455-467.

- Mues B, Brisse B, Zwadlo G, Themann H, Bender F, Sorg C. 1990. Phenotyping of macrophages with monoclonal antibodies in endomyocardial biopsies as a new approach to diagnosis of myocarditis. *Eur Heart J*, 11 (7):619-627.
- Muller J, Wallukat G, Dandel M, Bieda H, Brandes K, Spiegelsberger S, Nissen E, Kunze R, Hetzer R. 2000. Immunoglobulin adsorption in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy. *Circulation*, 101 (4):385-391.
- Nielsen TS, Nyengaard JR, Moller J, Banner J, Nielsen LP, Baandrup UT. 2014. Quantitative diagnosis of lymphocytic myocarditis in forensic medicine. *Forensic Sci Int*, 238:9-15.
- Norja P, Hokynar K, Aaltonen LM, Chen R, Ranki A, Partio EK, Kiviluoto O, Davidkin I, Leivo T, Eis-Hubinger AM, Schneider B, Fischer HP, Tolba R, Vapalahti O, Vaheri A, Soderlund-Venermo M, Hedman K. 2006. Bioportfolio: lifelong persistence of variant and prototypic erythrovirus DNA genomes in human tissue. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 103 (19):7450-7453.
- Noutsias E. 2006. Meta-Analyse über den immunhistologischen Nachweis einer intra-myokardialen Entzündung in Endomyokardbiopsien von Patienten mit Myokarditis und dilatativer Kardiomyopathie [Dissertation]. Berlin: Charité – Universitätsmedizin Berlin.
- Noutsias M. 2014. Myocarditis. In: Maisel AS, Filippatos G, Hrsg. *Heart Failure: The Expert's Approach*. Erste Aufl. London: JP Medical, 506-521.
- Noutsias M, Maisch B. 2014. Myocarditis and pericarditis. In: Tubaro M, Vranckx P, Price S, Vrints C, Hrsg. *The ESC Textbook of Acute and Intensive Cardiac Care*. Zweite Aufl. Oxford: Oxford University Press, 547-560.
- Noutsias M, Seeberg B, Schultheiss HP, Kuhl U. 1999. Expression of cell adhesion molecules in dilated cardiomyopathy: evidence for endothelial activation in inflammatory cardiomyopathy. *Circulation*, 99 (16):2124-2131.
- Noutsias M, Pauschinger M, Schultheiss H, Kuhl U. 2002a. Phenotypic characterization of infiltrates in dilated cardiomyopathy - diagnostic significance of T-lymphocytes and macrophages in inflammatory cardiomyopathy. *Med Sci Monit*, 8 (7):CR478-487.
- Noutsias M, Pauschinger M, Schultheiss HP, Kuhl U. 2003a. Cytotoxic perforin+ and TIA-1+ infiltrates are associated with cell adhesion molecule expression in dilated cardiomyopathy. *Eur J Heart Fail*, 5 (4):469-479.
- Noutsias M, Pauschinger M, Poller WC, Schultheiss HP, Kuhl U. 2004. Immunomodulatory treatment strategies in inflammatory cardiomyopathy: current status and future perspectives. *Expert Rev Cardiovasc Ther*, 2 (1):37-51.
- Noutsias M, Pauschinger M, Gross U, Lassner D, Schultheiss HP, Kuhl U. 2008. Giant-cell myocarditis in a patient presenting with dilated cardiomyopathy and ventricular tachycardias treated by immunosuppression: a case report. *Int J Cardiol*, 128 (2):e58-59.

- Noutsias M, Pauschinger M, Ostermann K, Escher F, Blohm JH, Schultheiss H, Kuhl U. 2002b. Digital image analysis system for the quantification of infiltrates and cell adhesion molecules in inflammatory cardiomyopathy. *Med Sci Monit*, 8 (5):MT59-71.
- Noutsias M, Hohmann C, Pauschinger M, Schwimmbeck PL, Ostermann K, Rode U, Yacoub MH, Kuhl U, Schultheiss HP. 2003b. sICAM-1 correlates with myocardial ICAM-1 expression in dilated cardiomyopathy. *Int J Cardiol*, 91 (2-3):153-161.
- Noutsias M, Fechner H, de Jonge H, Wang X, Dekkers D, Houtsmuller AB, Pauschinger M, Bergelson J, Warraich R, Yacoub M, Hetzer R, Lamers J, Schultheiss HP, Poller W. 2001. Human coxsackie-adenovirus receptor is colocalized with integrins $\alpha(v)\beta(3)$ and $\alpha(v)\beta(5)$ on the cardiomyocyte sarcolemma and upregulated in dilated cardiomyopathy: implications for cardiotropic viral infections. *Circulation*, 104 (3):275-280.
- O'Connell JB, Dec GW, Goldenberg IF, Starling RC, Mudge GH, Augustine SM, Costanzo-Nordin MR, Hess ML, Hosenpud JD, Icenogle TB, et al. 1990. Results of heart transplantation for active lymphocytic myocarditis. *J Heart Transplant*, 9 (4):351-355; discussion 355-356.
- Olbrich HG. 2001. Epidemiology-etiology of dilated cardiomyopathy. *Z Kardiol*, 90 Suppl 1:2-9.
- Palecek T, Kuchynka P, Hulinska D, Schramlova J, Hrbackova H, Vitkova I, Simek S, Horak J, Louch WE, Linhart A. 2010. Presence of *Borrelia burgdorferi* in endomyocardial biopsies in patients with new-onset unexplained dilated cardiomyopathy. *Med Microbiol Immunol*, 199 (2):139-143.
- Pauschinger M, Phan MD, Doerner A, Kuehl U, Schwimmbeck PL, Poller W, Kandolf R, Schultheiss HP. 1999. Enteroviral RNA replication in the myocardium of patients with left ventricular dysfunction and clinically suspected myocarditis. *Circulation*, 99 (7):889-895.
- Pauschinger M, Kuhl U, Dorner A, Schieferecke K, Petschauer S, Rauch U, Schwimmbeck PL, Kandolf R, Schultheiss HP. 1998. Detection of enteroviral RNA in endomyocardial biopsies in inflammatory cardiomyopathy and idiopathic dilated cardiomyopathy. *Z Kardiol*, 87 (6):443-452.
- Pelliccia A, Fagard R, Bjornstad HH, Anastassakis A, Arbustini E, Assanelli D, Biffi A, Borjesson M, Carre F, Corrado D, Delise P, Dorwarth U, Hirth A, Heidebuchel H, Hoffmann E, Mellwig KP, Panhuyzen-Goedkoop N, Pisani A, Solberg EE, van-Buuren F, Vanhees L, Blomstrom-Lundqvist C, Deligiannis A, Dugmore D, Glikson M, Hoff PI, Hoffmann A, Hoffmann E, Horstkotte D, Nordrehaug JE, Oudhof J, McKenna WJ, Penco M, Priori S, Reybrouck T, Senden J, Spataro A, Thiene G. 2005. Recommendations for competitive sports participation in athletes with cardiovascular disease: a consensus document from the Study Group of Sports Cardiology of the Working Group of Cardiac Rehabilitation and Exercise Physiology and the Working Group of Myocardial and Pericardial Diseases of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J*, 26 (14):1422-1445.

- Phillips M, Robinowitz M, Higgins JR, Boran KJ, Reed T, Virmani R. 1986. Sudden cardiac death in Air Force recruits. A 20-year review. *JAMA*, 256 (19):2696-2699.
- Prochorec-Sobieszek M, Bilinska ZT, Grzybowski J, Mazurkiewicz L, Skwarek M, Walczak E, Michalak E, Cedro K, Chmielak Z, Debski A, Demkow M, Witkowski A, Wagner T, Ruzyllo W. 2006. Assessment of the inflammatory process by endomyocardial biopsy in patients with dilated cardiomyopathy based on pathological and immunohistochemical methods. *Kardiol Pol*, 64 (5):479-487; discussion 488.
- Punukollu G, Gowda RM, Khan IA, Navarro VS, Vasavada BC. 2007. Clinical aspects of the Chagas' heart disease. *Int J Cardiol*, 115 (3):279-283.
- R Core Team. 2015. R: A Language and Environment for Statistical Computing [Internet]. URL: <http://www.R-project.org/>. Stand: 10.06.2015.
- Richardson P, McKenna W, Bristow M, Maisch B, Mautner B, O'Connell J, Olsen E, Thiene G, Goodwin J, Gyrfas I, Martin I, Nordet P. 1996. Report of the 1995 World Health Organization/International Society and Federation of Cardiology Task Force on the Definition and Classification of cardiomyopathies. *Circulation*, 93 (5):841-842.
- Rottgen R, Christiani R, Freyhardt P, Gutberlet M, Schultheiss HP, Hamm B, Kuhl U. 2011. Magnetic resonance imaging findings in acute myocarditis and correlation with immunohistological parameters. *Eur Radiol*, 21 (6):1259-1266.
- Rucker G, Schwarzer G, Carpenter JR, Schumacher M. 2008. Undue reliance on I(2) in assessing heterogeneity may mislead. *BMC Med Res Methodol*, 8:79.
- Sagar S, Liu PP, Cooper LT, Jr. 2012. Myocarditis. *Lancet*, 379 (9817):738-747.
- Sakakibara S, Konno S. 1962. Endomyocardial biopsy. *Jpn Heart J*, 3:537-543.
- Sato Y, Yamada T, Taniguchi R, Nagai K, Makiyama T, Okada H, Kataoka K, Ito H, Matsumori A, Sasayama S, Takatsu Y. 2001. Persistently Increased Serum Concentrations of Cardiac Troponin T in Patients With Idiopathic Dilated Cardiomyopathy Are Predictive of Adverse Outcomes. *Circulation*, 103 (3):369-374.
- Schenk T, Enders M, Pollak S, Hahn R, Huzly D. 2009. High prevalence of human parvovirus B19 DNA in myocardial autopsy samples from subjects without myocarditis or dilative cardiomyopathy. *J Clin Microbiol*, 47 (1):106-110.
- Schnitt SJ, Ciano PS, Schoen FJ. 1987. Quantitation of lymphocytes in endomyocardial biopsies: use and limitations of antibodies to leukocyte common antigen. *Hum Pathol*, 18 (8):796-800.
- Schofield CJ, Dias JC. 1999. The Southern Cone Initiative against Chagas disease. *Adv Parasitol*, 42:1-27.
- Schulz-Menger J, Maisch B, Abdel-Aty H, Pankuweit S. 2007. Integrated biomarkers in cardiomyopathies: cardiovascular magnetic resonance imaging combined with molecular and immunologic markers--a stepwise approach for diagnosis and treatment. *Herz*, 32 (6):458-472.

- Schulz E, Jabs A, Gori T, Hink U, Sotiriou E, Tschöpe C, Schultheiss H-P, Münzel T, Wenzel P. 2015. Feasibility and safety of left ventricular endomyocardial biopsy via transradial access: Technique and initial experience. *Catheter Cardiovasc Interv*, 86 (4):761-765.
- Schumm J, Greulich S, Wagner A, Grün S, Ong P, Bentz K, Klingel K, Kandolf R, Bruder O, Schneider S, Sechtem U, Mahrholdt H. 2014. Cardiovascular magnetic resonance risk stratification in patients with clinically suspected myocarditis. *J Cardiovasc Magn Reson*, 16 (1):14.
- Schwarzer G. 2015. meta: General Package for Meta-Analysis [Internet]. URL: <https://cran.r-project.org/web/packages/meta/index.html>. Stand: 10.06.2015.
- Seizer P, Geisler T, Bigalke B, Schneider M, Klingel K, Kandolf R, Stellos K, Schrieck J, Gawaz M, May AE. 2013. EMMPRIN and its ligand cyclophilin A as novel diagnostic markers in inflammatory cardiomyopathy. *Int J Cardiol*, 163 (3):299-304.
- Shanes JG, Ghali J, Billingham ME, Ferrans VJ, Fenoglio JJ, Edwards WD, Tsai CC, Saffitz JE, Isner J, Furrer S, et al. 1987. Interobserver variability in the pathologic interpretation of endomyocardial biopsy results. *Circulation*, 75 (2):401-405.
- Smith SC, Ladenson JH, Mason JW, Jaffe AS. 1997. Elevations of cardiac troponin I associated with myocarditis. Experimental and clinical correlates. *Circulation*, 95 (1):163-168.
- Springer TA. 1990. Adhesion receptors of the immune system. *Nature*, 346 (6283):425-434.
- Sramko M, Kubanek M, Tintera J, Kautznerova D, Weichet J, Maluskova J, Franekova J, Kautzner J. 2013. Utility of combination of cardiac magnetic resonance imaging and high-sensitivity cardiac troponin T assay in diagnosis of inflammatory cardiomyopathy. *Am J Cardiol*, 111 (2):258-264.
- Staudt A, Schaper F, Stangl V, Plagemann A, Böhm M, Merkel K, Wallukat G, Wernecke KD, Stangl K, Baumann G, Felix SB. 2001. Immunohistological changes in dilated cardiomyopathy induced by immunoabsorption therapy and subsequent immunoglobulin substitution. *Circulation*, 103 (22):2681-2686.
- Taylor MRG, Carniel E, Mestroni L. 2006. Cardiomyopathy, familial dilated. *Orphanet J Rare Dis*, 1:27.
- Tschöpe C, Kherad B, Schultheiss HP. 2015. How to perform an endomyocardial biopsy? *Türk Kardiyol Dern Ars*, 43 (6):572-575.
- Tsukada B, Terasaki F, Shimomura H, Otsuka K, Otsuka K, Katashima T, Fujita S, Imanaka-Yoshida K, Yoshida T, Hiroe M, Kitaura Y. 2009. High prevalence of chronic myocarditis in dilated cardiomyopathy referred for left ventriculoplasty: expression of tenascin C as a possible marker for inflammation. *Hum Pathol*, 40 (7):1015-1022.

- U.S. National Institutes of Health. 2016. Multicenter Study of Immunoabsorption in Dilated Cardiomyopathy [Internet]. URL: <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00558584?term=NCT00558584&rank=1>. Stand: 24.02.2016.
- U.S. National Library of Medicine. 2014. OLDMEDLINE Data [Internet]. URL: http://www.nlm.nih.gov/databases/databases_oldmedline.html. Stand: 13.06.2015.
- U.S. National Library of Medicine. 2015. MEDLINE, PubMed, and PMC (PubMed Central): How are they different? [Internet]. URL: http://www.nlm.nih.gov/pubs/factsheets/dif_med_pub.html. Stand: 13.06.2015.
- Ukena C, Mahfoud F, Kindermann I, Kandolf R, Kindermann M, Bohm M. 2011. Prognostic electrocardiographic parameters in patients with suspected myocarditis. *Eur J Heart Fail*, 13 (4):398-405.
- Ukena C, Kindermann M, Mahfoud F, Geisel J, Lepper PM, Kandolf R, Bohm M, Kindermann I. 2014. Diagnostic and prognostic validity of different biomarkers in patients with suspected myocarditis. *Clin Res Cardiol*, 103 (9):743-751.
- Vallbracht-Israng KB, Kazak I, Schwimmbeck PL. 2007. Association of cytokines with endothelium dependent flow mediated vasodilation (FMD) of systemic arteries in patients with non-ischemic cardiomyopathy. *Cardiovasc Ultrasound*, 5:49.
- Vallbracht KB, Schwimmbeck PL, Seeberg B, Kuhl U, Schultheiss HP. 2002. Endothelial dysfunction of peripheral arteries in patients with immunohistologically confirmed myocardial inflammation correlates with endothelial expression of human leukocyte antigens and adhesion molecules in myocardial biopsies. *J Am Coll Cardiol*, 40 (3):515-520.
- Vallbracht KB, Schwimmbeck PL, Kuhl U, Seeberg B, Schultheiss HP. 2004. Endothelium-dependent flow-mediated vasodilation of systemic arteries is impaired in patients with myocardial virus persistence. *Circulation*, 110 (18):2938-2945.
- Vallbracht KB, Schwimmbeck PL, Kuhl U, Rauch U, Seeberg B, Schultheiss HP. 2005. Differential aspects of endothelial function of the coronary microcirculation considering myocardial virus persistence, endothelial activation, and myocardial leukocyte infiltrates. *Circulation*, 111 (14):1784-1791.
- van Erkel AR, Pattynama PMT. 1998. Receiver operating characteristic (ROC) analysis: Basic principles and applications in radiology. *Eur J Radiol*, 27 (2):88-94.
- Veinot JP. 2002. Diagnostic endomyocardial biopsy pathology--general biopsy considerations, and its use for myocarditis and cardiomyopathy: a review. *Can J Cardiol*, 18 (1):55-65.
- Vignola PA, Aonuma K, Swaye PS, Rozanski JJ, Blankstein RL, Benson J, Gosselin AJ, Lister JW. 1984. Lymphocytic myocarditis presenting as unexplained ventricular arrhythmias: diagnosis with endomyocardial biopsy and response to immunosuppression. *J Am Coll Cardiol*, 4 (4):812-819.

- Voigt A, Elgeti T, Durmus T, Idiz ME, Butler C, Beling M, Schilling R, Klingel K, Kandolf R, Stangl K, Taupitz M, Kivelitz D, Wagner M. 2011. Cardiac magnetic resonance imaging in dilated cardiomyopathy in adults--towards identification of myocardial inflammation. *Eur Radiol*, 21 (5):925-935.
- Wessely R, Henke A, Zell R, Kandolf R, Knowlton KU. 1998. Low-level expression of a mutant coxsackieviral cDNA induces a myocytopathic effect in culture: an approach to the study of enteroviral persistence in cardiac myocytes. *Circulation*, 98 (5):450-457.
- Wojnicz R, Nowalany-Kozielska E, Wodniecki J, Szczurek-Katanski K, Nozynski J, Zembala M, Rozek MM. 1998. Immunohistological diagnosis of myocarditis. Potential role of sarcolemmal induction of the MHC and ICAM-1 in the detection of autoimmune mediated myocyte injury. *Eur Heart J*, 19 (10):1564-1572.
- Wojnicz R, Nowalany-Kozielska E, Wojciechowska C, Glanowska G, Wilczewski P, Niklewski T, Zembala M, Polonski L, Rozek MM, Wodniecki J. 2001. Randomized, placebo-controlled study for immunosuppressive treatment of inflammatory dilated cardiomyopathy: two-year follow-up results. *Circulation*, 104 (1):39-45.
- Wood MJ, Picard MH. 2004. Utility of echocardiography in the evaluation of individuals with cardiomyopathy. *Heart*, 90 (6):707-712.
- Woodruff JF. 1980. Viral myocarditis. A review. *Am J Pathol*, 101 (2):425-484.
- Yancy CW, Jessup M, Bozkurt B, Butler J, Casey DE, Jr., Drazner MH, Fonarow GC, Geraci SA, Horwich T, Januzzi JL, Johnson MR, Kasper EK, Levy WC, Masoudi FA, McBride PE, McMurray JJ, Mitchell JE, Peterson PN, Riegel B, Sam F, Stevenson LW, Tang WH, Tsai EJ, Wilkoff BL. 2013. 2013 ACCF/AHA guideline for the management of heart failure: executive summary: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on practice guidelines. *Circulation*, 128 (16):1810-1852.
- Yilmaz A, Mahrholdt H, Athanasiadis A, Vogelsberg H, Meinhardt G, Voehringer M, Kispert EM, Deluigi C, Baccouche H, Spodarev E, Klingel K, Kandolf R, Sechtem U. 2008. Coronary vasospasm as the underlying cause for chest pain in patients with PVB19 myocarditis. *Heart*, 94 (11):1456-1463.
- Yilmaz A, Kindermann I, Kindermann M, Mahfoud F, Ukena C, Athanasiadis A, Hill S, Mahrholdt H, Voehringer M, Schieber M, Klingel K, Kandolf R, Bohm M, Sechtem U. 2010. Comparative evaluation of left and right ventricular endomyocardial biopsy: differences in complication rate and diagnostic performance. *Circulation*, 122 (9):900-909.
- Zimmermann O, Kochs M, Zwaka TP, Bienek-Ziolkowski M, Hoher M, Hombach V, Torzewski J. 2007. Prognostic role of myocardial tumor necrosis factor-alpha and terminal complement complex expression in patients with dilated cardiomyopathy. *Eur J Heart Fail*, 9 (1):51-54.

Zimmermann O, Grebe O, Merkle N, Nusser T, Kochs M, Bienek-Ziolkowski M, Hombach V, Torzewski J. 2006. Myocardial biopsy findings and gadolinium enhanced cardiovascular magnetic resonance in dilated cardiomyopathy. *Eur J Heart Fail*, 8 (2):162-166.

Zimmermann O, Bienek-Ziolkowski M, Wolf B, Vetter M, Baur R, Mailander V, Hombach V, Torzewski J. 2009. Myocardial inflammation and non-ischaemic heart failure: is there a role for C-reactive protein? *Basic Res Cardiol*, 104 (5):591-599.

Zimmermann O, Kochs M, Zwaka TP, Kaya Z, Lepper PM, Bienek-Ziolkowski M, Hoher M, Hombach V, Torzewski J. 2005. Myocardial biopsy based classification and treatment in patients with dilated cardiomyopathy. *Int J Cardiol*, 104 (1):92-100.

8 Anhang

Danksagung

Mein Dank gilt zunächst Herrn PD Dr. med. Michel Noutsias, FESC, FHFA, für die exzellente Betreuung, die Überlassung des Themas, eine ausführliche Einweisung in die Thematik, für die Konzeption und Mithilfe bei der Datenerhebung, für wichtige Denkanstöße, konstruktive Anmerkungen zum Manuskript meiner Dissertation und zuletzt für seine richtungsweisende Rolle bei der Erstellung der Kongresspräsentation und des aus dieser Dissertation hervorgegangenen Manuskripts, welches zur Publikation eingereicht werden wird.

Danken möchte ich auch Herrn Prof. Dr. med. Peter Schlattmann für die Unterstützung bei der statistischen Auswertung dieser Arbeit und seine ständige Geduld für aufkommende Fragen.

Dank gebührt auch meiner Ehefrau Isabell Katzmann und meinen Eltern Dres. med. Ute und Stefan Katzmann, die mich in jeder Phase meiner Doktorarbeit motiviert und unterstützt haben. Meiner Tante Andrea Katzmann danke ich für die Beantwortung einiger verzwickter Fragen zur formalen und sprachlichen Gestaltung.

Veröffentlichungen

Teile dieser Dissertation wurden im Rahmen der Jahreskonferenz der *Heart Failure Association* der ESC am 24.05.2016 in Florenz, Italien präsentiert:

Noutsias M, Katzmann J, Porokhovnikov I, Noutsias E, Schulze PC, Schlattmann P. 2016. Inflammatory cardiomyopathy detected by immunohistological methods – A meta-analysis. *Eur J Heart Fail*, 18 (Suppl. 1): 470-471.

Ehrenwörtliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität bekannt ist,
ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir benutzten Hilfsmittel, persönlichen Mitteilungen und Quellen in meiner Arbeit angegeben sind,
mich folgende Personen bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskripts unterstützt haben: Herr PD Dr. med. Michel Noutsias, FESC, FHFA, Jena und Herr Prof. Dr. med. Peter Schlattmann, Jena,
die Hilfe eines Promotionsberaters nicht in Anspruch genommen wurde und dass Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen von mir für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen,
dass ich die Dissertation noch nicht als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder andere wissenschaftliche Prüfung eingereicht habe und
dass ich die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe.

Leipzig, 01.02.2017

Julius Katzmann